Aus der Universitäts-Frauenklinik Tübingen
Direktor: Professor Dr. H. Roemer

VORKOMMEN UND BEDEUTUNG VON THEKAELEMENTEN IN OVARIALTUMOREN

Histochemische Untersuchungen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
GÜNTER TEUFEL
aus Tuttlingen

1969

Aus der Universitäts-Frauenklinik Tübingen
Direktor: Professor Dr. H. Roemer

VORKOMMEN UND BEDEUTUNG VON THEKAELEMENTEN IN OVARIALTUMOREN

Histochemische Untersuchungen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Günter T e u f e l
aus Tuttlingen

1969

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Professor Dr. J.Hirschmann

1.Berichterstatter: Privatdozent Dr.A.Pfleiderer
(Professor Dr. H.Roemer)

2.Berichterstatter: Professor Dr. A. Bohle

Inhaltsverzeichnis

Seite

A . Einführung und Fragestellung 3

B. Einleitung 4

1. Die thekaähnlichen Zellen 4
2. Die enzymaktiven Stromazellen 6
3. Vorkommen von thekaähnlichen und enzymaktiven Stromazellen bei Ovarialtumoren 8
4. Hormonale Aktivität der thekaähnlichen bzw. enzymaktiven Stromazellen 11
   a) Funktionelle Blutungen und Zeichen einer Stimulierung des Endometriums 11
   b) Zeichen einer Östrogensekretion am Vaginalepithel 12
   c) Die Hormonausscheidung 12
   d) Zeichen einer Virilisierung 13
5. Über den histochemischen Charakter der Theka und anderer wahrscheinlich hormonbildender Gewebe des Ovars 14

C. Material und Methodik 20

D. Ergebnisse 26

I. Morphologie und Histochemie enzymaktiver Stromazellen 26
II. Vorkommen der enzymaktiven Stromazellen 34
III. Untersuchungen über die Hormonaktivität der Ovarialtumoren 43

E. Diskussion 46

F. Zusammenfassung 58

G. Literaturverzeichnis 60

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543901_0029

A. Einführung und Fragestellung

Von Granulosa- und Thekazelltumoren wird allgemein angenommen, daß sie imstande sind, Östrogene zu bilden. Schon Fränkl (1927) fand aber auch bei anderen Ovarialtumoren Zeichen einer Hormonaktivität. Esau (1933) und Uhlmann (1939) berichten sogar über hormonaktive Metastasen im Ovar. Turunen (1955) und Morris & Scully (1958) meinten dafür thekaähnliche Zellen verantwortlich machen zu können, die sie gelegentlich imStroma solcher Tumoren entdeckten.

Pfleiderer (1963) beobachtete bei einem östrogenbildenden Adenocarcinom, Woodruff u. Mitarb. (1963 und 1968) bei 5 östrogenaktiven Ovarialtumoren und bei einem virilisierenden Krukenbergtumor Stromazellen mit intensiven Enzymreaktionen.

Scully & Cohen konnten 1964 bei 7 Ovarialtumoren zeigen, daß ein Teil der thekaähnlichen Zellen und auch scheinbar gewöhnliche Stromazellen beim Nachweis der Isozitrat-, der Glucose-6-Phosphat-, der Laktat-Dehydrogenase, sowie beim Nachweis der NADH-Diaphorase und der alkalischen Phosphatase stark positiv reagierten. Sie bezeichneten diese Zellen deshalb als enzymatically active stromal cells (E A S C).

Sieht man von diesen Beobachtungen an Einzelfällen ab, so fehlen Untersuchungen an einem größeren Material, um über das Vorkommen der enzymaktiven Zellen und damit über die Entstehungsweise, die Funktion und die Bedeutung dieser Zellen Aufschluß zu gewinnen.

Ausgedehnte histochemische Untersuchungen an 114 Ovarialtumoren geben uns heute die Möglichkeit das Enzymmuster und den Stoffgehalt der enzymaktiven Stromazellen, ihr Vorkommen und ihre Häufigkeit bei den verschiedenen Ovarialtumoren zu untersuchen, und eine Beziehung zwischen dem Auftreten der Zellen und den klinischen bzw. histologischen Zeichen einer Hormonaktivität aufzustellen.

B. Einleitung

Zunächst erhebt sich die Frage, ob die mit den üblichen histologischen Färbemethoden als thekaähnliche Zellen definierten Elemente mit den sog. enzymaktiven Stromazellen identisch sind.

1. Die thekaähnlichen Zellen

Im Stroma mancher Ovarialtumoren (vgl. Tabelle 3) treten Zellen auf, die sich morphologisch von den gewöhnlichen Bindegewebszellen unterscheiden. W.E. Ober (1960) beschreibt diese Zellen als relativ klein, polyedrisch mit einem homogenen, dicht eosinophilen Cytoplasma und einem dunklen unstrukturierten Kern. Reinke'sche Kristalle und Lipopigmente fehlen, eine Bezieung zu den Nervenfasern besteht nicht. Die Zellen sind in kleinen Haufen angeordnet oder ohne erkennbares Wachstumsmuster im Stroma verstreut.

Auf Grund ihrer morphologischen Ähnlichkeit sieht Ober (1960) diese Zellen als Thecaluteinzellen an, andere Autoren (Biggart & Macafée 1955, Turunen 1955, Woodruff u. Mitarb. 1960 und Jakobovits 1963) bezeichnen sie unverbindlicher als thekaähnliche Zellen.

Greenblatt u. Mitarb. (1939), Hughesdon (1958) und Eddie (1968) sprechen von einer "Stromareaktion", einer "Thekareaktion" oder einer Umwandlung des Tumorstromas in Thekagewebe, Woodruff & Acosta (1962), Fox (1965) und Spandoni u.a. (1965) von luteinisierten Stromazellen. Plotz u. Mitarb. (1966) unterscheiden zwei Zellgruppen (Foci): solche, die aus thekaähnlichen und andere, die aus luteinisierten, thekaähnlichen Zellen bestehen. Nach Scully & Richardson (1961) gibt es keine Kriterien, die es erlaubten, thecaähnliche Zellen von Thekaluteinzellen, Leydig'schen Zellen und Hiluszellen, sowie von Nebennierenrindenzellen oder gar von Zellformen, wie sie bei Hyperthecosis und Thecomatosis auftreten, eindeutig zu unterscheiden.

Eine ganze Reihe von Untersuchungen gilt dem Fett- und Kohlenhydratgehalt der thekaähnlichen Stromazellen. Beim Nachweis von Fetten (Sudan IV, Ölrot O, Scharlachrot) finden mehrere Autoren eine positive Reaktion (Tab. 1). Hughesdon (1958) und Scully & Cohen (1964) betonen aber, daß Fette nur bei einem Teil der thekaähnlichen Stromazellen, sehr wahrscheinlich bevorzugt in den luteinisierten Formen auftreten.

Tabelle 1: Fette und Kohlenhydrate in den thekaähnlichen Stromazellen.

Reaktionen zum Nachweis von:

	Reaktion	Autoren
a) Fetten u. Lipoiden		
Sudan IV	+	Deane (1951), Turunen (1955), Morris & Scully (1958), Bruno & Ober (1959), Ober et al.(1962), Spandoni et al. (1965).
teilweise	+	Hughesdon (1958), Scully & Cohen (1964)
Ölrot O	+	Woodruff et al. (1963), Spandoni et al. (1965)
Scharlachrot	+	Scully & Richardson (1961)
b) Aldehyd- und Carbonylgruppen		
Ashbell-Seligman	+	Deane (1951), Morris & Scully (1958)
Schulz'sche Reaktion	-	Deane (1951), Morris & Scully (1958)
Fluoreszenz	-	Deane (1951)
c) Kohlenhydraten		
P A S - Reaktion	-	Ober (1960), Spandoni et al. (1965)
Glucoproteine[x)]	-	Bruno & Ober (1959)
Mucoproteine[x)]	-	Bruno & Ober (1959)

x) Methoden nicht angegeben.

Untersuchungen über den Gehalt an Carbonylgruppen und Steroiden wurden nur bei einem Brennertumor (Morris & Scully 1958) und einem mucinösen Kystom (Deane 1951) vorgenommen. In beiden Fällen beobachten die Autoren eine positive Reaktion nach Ashbell-Seligman, wogegen die Schulz'sche Reaktion und die Fluoreszenzmikroskopie keinen Anhalt für Steroide oder Keto- bzw. Aldehydgruppen gibt.

Die negative P A S - Reaktion weist auf das Fehlen zumindest größerer Mengen an Kohlenhydraten hin.

2. Die enzymaktiven Stromazellen

Im Stroma von 3 Granulosazelltumoren in "interstitiellen Zellkomplexen", die feintropfige Lipoide enthielten, beobachtete Pfleiderer (1963) eine positive Reaktion der Leucinaminopeptidase, der Laktat- und der 3-ß-ol-Steroid-Dehydrogenase und wies auf entsprechende Enzymreaktionen in Thekazellen hin.

Woodruff u. Mitarb. (1963) sowie Scully & Cohen (1964), die sich besonders intensiv mit der Enzymaktivität in Stromazellen beschäftigten, konnten zeigen, daß nur ein Teil der luteinisierten Stromazellen eine Enzymaktivität aufweist. Andererseits findet sich diese Aktivität auch in spindelförmigen oder gerundeten Zellen, die von benachbarten Fibrozyten nicht zu unterscheiden sind. Die Autoren finden enzymaktive Stromazellen bei 7 fast ausschließlich drüsig wachsenden Ovarialtumoren in unmittelbarer Nachbarschaft des Tumorgewebes.

Da in 66 gesunden Ovarien 20 mal luteinisierte und in 39 Fällen enzymaktive Stromazellen vorwiegend bei älteren Frauen vorkommen und alle Ovarien mit luteinisierten Zellen zugleich enzymaktive Stromazellen, umgekehrt jedoch nur 44 % der Ovarien mit enzymaktiven Stromazellen luteinisierte Zellen enthalten, ist nach Scully & Cohen (1964) die enzymaktive Stromazelle als eine Entwicklungsstufe zur Stromaluteinzelle anzusehen.

Tabelle 2: Enzymgehalt der enzymaktiven Stromazellen (EASC)

A) Oxydoreduktasen			Autoren
NADH-Cytochrom-c-Reduktase		+	2,3,5
NADPH-Cytochrom-c-Reduktase		+	2,5
Glucose-6-Phosphat-DH		+	2,3,4,5
Isozitrat-DH		+	3,4,5
Laktat-DH		+	1,3,5
Isopropylalkohol-DH		+	5
ß-OH-Butyrat-DH	teilw.	+	5
Succinat-DH	teilw.	+/-	5/3
3-ß-ol-Steroid-DH (Substrat: Dehydroepiandrosteron)		+	1
6-Phosphogluconat-DH		+	4
alpha-Glycerophosphat-DH		-	2,5
B) Hydrolasen			
Alkalische Phosphatase		+	3,4,5
Saure Phosphatase		-	5
Aminopeptidasen (Substrat: 1-Leucyl-4-methoxy-ß-naphthylamid)		-	5
(Substrat: 1-Leucyl-ß-naphthyl-amid)		+	1
Esterasen	teilw.	+	5
Glucose-6-Phosphatase		+	4

Anmerkung: (1) Pfleiderer (1963), (2) Woodruff u.a. (1963), (3) Scully & Cohen (1964), (4) Willighagen & Thiery (1968), (5) Woodruff u.a. (1968).
Die Intensität der Enzymreaktionen ist in dieser Zusammenstellung nicht berücksichtigt. Übereinstimmend wird über eine starke Reaktion der NADH- und der NADPH-Cytochrom-c-Reduktase, sowie der Isozitrat-, der Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase und der alkalischen Phosphatase berichtet. Auch die Laktat-DH, die 6-Phosphogluconat-DH und die Glucose-6-Phosphatase zeigen eine deutliche Enzymaktivität.

Die in der Literatur bekannten Ergebnisse enzymhistochemischer Untersuchungen an insgesamt 17 Fällen lassen sich am besten in einer Tabelle zusammenfassen (Tabelle 2). Im einzelnen handelt es sich dabei um 5 Granulosazelltumoren, 4 Adenocarcinome, 2 mucinöse Cystadenocarcinome, 1 malignen mesenchymalen Tumor und um einen Brennertumor sowie je 2 Metastasen von Magen- und Dickdarmcarcinomen.

3. Vorkommen von thekaähnlichen bzw. enzymaktiven Stromazellen bei Ovarialtumoren

Thekaähnliche Zellen und enzymaktive Stromazellen werden in den verschiedensten Ovarialtumoren beschrieben (Tab. 3). In den Metastasen von Tumoren des Magendarmkanals im Ovar kommen diese Zellen besonders häufig vor. In Ovarialmetastasen von Mammacarcinomen (Scully & Cohen 1964), außerhalb des Ovars, bei Metastasen primärer Ovarialtumoren oder bei Tumoren anderer Organe (Scully & Richardson 1961) werden sie bisher nicht beobachtet.

Enzymaktive Stromazellen fehlen immer dann in malignen Ovarialtumoren, wenn eine Röntgen- oder Radiumbestrahlung der Entnahme der Gewebsproben vorausgeht. Eine zytostatische Behandlung scheint jedoch ohne Einfluß auf das Vorkommen solcher Zellen zu sein (Pfleiderer 1968).

Einen Überblick über die Anzahl und den histologischen Typ der bis heute im Schrifttum erwähnten Ovarialtumoren mit thekaähnlichen Zellen bzw. enzymaktiven Stromazellen vermittelt die Tabelle 3.

Tabelle 3: Vorkommen von thekaähnlichen bzw. enzymaktiven Stromazellen in Ovarialtumoren (Literaturfälle)

Tumoren[xx]	Zahl der Fälle	Autoren
Sog. hormonaktive Tumoren		
a) Granulosazelltumoren	7	McKay & Robinson (1949), Pfleiderer (1963 x), Woodruff u.a. (1963 x), Scully & Cohen (1964 x)
b) Thekazelltumoren[xxx]	8	Sternberg & Gaskill (1950)
Sog. fraglich hormonaktive Tumoren		
a) Brennertumoren	16	Morris & Scully (1958), Farrar u.a. (1960), Ming & Goldman (1962), Jakobovits (1963), Hamwi u.a. (1963), Scully & Cohen (1964 x).
b) Cystadenofibrome	8	Morris & Scully (1958), Jakobovits (1963), Fathalla (1968).
c) Krukenbergtumoren	24	Turunen (1955), Bruno & Ober (1959), Ober u.a. (1960), Scully & Richardson (1961), Scully (1962), Spandoni u.a. (1964), Fox & Stamm (1965), Spandoni u.a. (1965), Eddie (1967), Scott u.a. (1967), Woodruff u.a. (1968 x), Fathalla (1968)
Sog. nicht hormonaktive Tumoren		
a) Seröse Kystome	17	Hughesdon (1958), Fox (1965), Plotz u.a. (1966 und 1967), Fathalla (1968)
b) Mucinöse Kystome	23	Bettinger & Jakobs (1946), Corriden (1949), Deane (1951), Hughesdon (1958), Jakobovits (1963), Scully (1963), Woodruff u.a. (1963 x), Scully & Cohen (1964 x), Fathalla (1968)

x) Fälle mit enzymaktiven Stromazellen.
xx) Einteilung nach Scully, Gore & Hertig und Gore.
xxx) Thekaähnliche Zellen bei diesen Fällen nicht Bestandteil des Tumorgewebes.

Tabelle 3

c) Endometrioide Carcinome	3	Hughesdon (1958)
d) Nicht genau klassifizierte Adonocarcinome	27	McKay & Robinson (1949), Jakobovits (1963), Woodruff u.a. (1963 x), Fathalla (1968).
e) Andere Ovarialtumoren (2 medulläre Carcinome, Struma ovarii, Dysgerminom, Mesonephroma ovarii, Fibrom, maligner mesenchymaler Tumor)	7	Hughesdon (1958), Ober (1960), Jakobovits (1963), Scully & Cohen (1964 x).

Metastasen im Ovar

Primärtumor		
a) Dickdarm	20	Scully & Richardson (1961), Scully & Cohen (1964 x), Eddie (1967).
b) Pankreas	1	Scully & Richardson (1961)
c) Endometrium	1	Plotz u.a. (1967)
d) Magen	siehe Krukenbergtumoren.	

4. Hormonale Aktivität der thekaähnlichen bzw. enzymaktiven Stromazellen

Schon seit langer Zeit hat man die Zeichen einer Hormonaktivität bei Ovarialtumoren vermutet, die gemeinhin nicht als hormonaktiv angesehen werden. So haben Esau (1933), Uhlmann (1939) und Wagner (1950) bei Krukenbergtumoren Symptome einer Virilisierung beobachtet. Wren & Frampton (1963) fanden bei 44 % der Frauen mit serösen Kystomen postklimakterische Blutungen. Behrens (1959) untersuchte die Endometrien bei 264 Frauen mit Ovarialtumoren. Dabei stellte er eine Stimulierung bei 28 Granulosa- und Thekazelltumoren und bei 50 anderen, histologisch nicht genauer klassifizierten Tumoren fest.

In neuester Zeit berichtete Eddie (1967) über eine glandulärcystische Hyperplasie des Endometriums bei 25 % der mucinösen und bei 7,5 % der serösen Kystome sowie bei 39 % aller primären Ovarialcarcinome.

Als Zeichen einer Hormonaktivität können ein entsprechend proliferiertes Endometrium, Blutungen, Veränderungen am Vaginalepithel, eine Virilisierung oder eine erhöhte Hormonausscheidung gewertet werden.

a) Funktionelle Blutungen und Zeichen einer Stimulierung des Endometriums

Turunen (1955), Hughesdon (1958), Morris & Scully (1958), Bruno & Ober (1959), Ober (1960), Scully & Richardson (1961), Jakobovits (1963), Woodruff et al. (1963) und Scully & Cohen (1964) beobachteten bei Ovarialtumoren (ausgenommen Granulosa- und Thecazelltumoren) mit thekaähnlichen (bzw. enzymaktiven) Stromazellen gleichzeitig eine Blutung in der Menopause oder eine glandulär-cystische Hyperplasie des Endometriums.

Fox (1965), Eddie (1967), Fathalla (1967) und Woodruff et al. (1967) verglichen Ovarialtumoren mit und ohne thekaähnliche Stromazellen miteinander. Funktionelle Blutungen oder eine Stimulierung des Endometriums stellten sie übereinstimmend fast ausschließlich bei Tumoren mit thekaähnlichen Zellen fest.

Bei 48 der 147 in Tabelle 3 vermerkten Fälle (ausgenommen Granulosa- und Thecazelltumoren) erwähnen die Autoren das gleichzeitige Vorkommen von thekaähnlichen (bzw. enzymaktiven) S romazellen einerseits und postklimakterischen Blutungen oder einer glandulär-cystischen Hyperplasie andererseits.

Während derartige Veränderungen auf eine Östrogenproduktion hinweisen, sind nur bei 3 Ovarialtumoren die Zeichen einer Progesteronwirkung am Endometrium beschrieben worden (Bruno & Ober 1959, Ober 1962 und Scott et al. 1967).

b) Zeichen einer Östrogensekretion am Vaginalepithel

Wren & Frampton (1963) wiesen darauf hin, daß bei Frauen in der Menopause mit Ovarialtumoren gelegentlich ein erhöhter Verhornungsindex anzutreffen sei. Fox (1965) beobachtete bei serösen Cystadenomen mit luteinisierten, thekaähnlichen Stromaluteinzellen einen erhöhten Verhornungsindex. Zur Kontrolle hatte er den Vaginalsmear von 100 Frauen in der Menopause untersucht.

Woodruff et al. (1963) schließlich konnten zeigen, daß nach der Exstirpation von 3 Ovarialtumoren mit enzymaktiven Stromazellen (1 mucinöses Cystadenom, 1 Fibroadenom, 1 Granulosa-theka-zelltumor) eine deutliche Linksverschiebung des Epithelreifungsindex - also ein Zeichen für das postoperative Absinken des Östrogenspiegels - eintrat.

c) Die Hormonausscheidung

Turunen (1955) war der erste, der bei einem Krukenbergtumor einer 69-jährigen Frau eine Östrogenausscheidung von 400 Einheiten in 24 Stunden beobachtete, die nach der Entfernung des Tumors auf 50 Einheiten abfiel.

Woodruff, Williams und Goldberg (1963) fanden ebenfalls nach der operativen Entfernung eines Adenocarcinoms im Ovarium ein Absinken der Östrogenausscheidung von 19 auf 5 mg.

Andererseits berichten Ober et al. (1962) über einen Rückgang der 17-Keto-Steroidausscheidung von 13,1 auf 3,5 mg/

24 Stunden nach der Exstirpation der Ovarialmetastase eines Sigmacarcinoms.

Auch Plotz und Mitarb. (1966) entdeckten Zeichen einer Virilisierung bei einer Patientin mit einem serösen papillären Cystadenom. Obwohl die Ausscheidung der 17-Keto-Steroide postoperativ nur unbedeutend zurückging, verschwanden die Symptome einer Vermännlichung. In-vitro vermochte das Tumorgewebe markiertes Progesteron zu Testosteron und zu Androstendion, sowie Pregnenolon und 17-Hydroxy-Pregnenolon zu Dehydroepiandrosteron umzusetzen. Die Autoren vermuten deshalb, daß der Tumor wenig, aber dafür hoch potente Androgene gebildet habe.

Auch bei 3 weiteren Ovarialtumoren mit thekaähnlichen Zellen (1 seröses Cystadenocarcinom, 1 medulläres Carcinom, 1 Metastase eines Carcinoms des Endometriums) fanden Plotz u.a. (1967) die Fähigkeit invitro Östradiol, Androgene und in geringem Maße Progesteron zu bilden. Aus diesen Befunden zogen sie den Schluß, daß in den Tumoren eine 3-ß-Hydroxy-Steroid-Dehydrogenase vorhanden sein müsse (vgl. Abb. 4). Tumoren ohne solche Zellen waren in-vitro nur in geringem Umfang zur Hormonproduktion befähigt.

d) Zeichen einer Virilisierung

Schon Esau (1933) und Uhlmann (1939) hatten die Symptome einer Virilisierung in Form von Bartwuchs, zunehmender Körperbehaarung, Heiserkeit der Stimme, akneiformen Eruptionen und Clitorishypertrohie bei Metastasen von Magencarcinomen im Ovarium gefunden. Gleichartige Beobachtungen ebenfalls an Krukenbergtumoren allerdings mit thekaähnlichen bzw. enzymaktiven Stromazellen machten Ober (1962), Scully (1963), Spandoni et al. (1965) und Woodruff et al. (1968). Über Virilisierungssymptome bei einer Metastase eines Sigmacarcinoms berichten Scully & Richardson (1961).

Aber auch primäre Ovarialtumoren mit thekaähnlichen Stromazellen - so ein Brennertumor (Morris & Scully 1958), ein mucinöses Cystadenocarcinom (Scully 1963) und ein papillär-seröses Cystadenocarcinom (Plotz u.a. 1966) - können mit Symptomen einer Vermännlichung einhergehen.

5. Über den histochemischen Charakter der Theka und anderer wahrscheinlich hormonbildender Gewebe des Ovars

Von den Theka- und Granulosazellen des Follikels und des Corpus luteum wird allgemein angenommen, daß sie an der Hormonbildung des Ovars, d.h. insbesondere an der Bildung von Östrogenen und Progesteron während des Zyklus beteiligt sind. Über die Funktion der interstitiellen Zellen und der Hiluszellen besteht noch keine vollkommene Klarheit.

Die genannten Gewebe sind weitgehend mit einem gleichen Enzymmuster ausgestattet. Unterschiedliche Auffassungen bestehen lediglich hinsichtlich der Enzymaktivität in der Granulosa des Follikels. Nach Deane u.a. (1962), Ikonen u.a. (1961), Woodruff u.a. (1963) und Scully & Cohen (1964) ist die Granulosa beinahe fermentfrei (vgl. Tabelle 4). König (1962) bestätigt diese Befunde, weist aber darauf hin, daß dies nur für Primär-, Sekundär- und Tertiärfollikel zutrifft. Die Granulosa des Graafschen Follikels dagegen unterscheidet sich in ihrem Enzymmuster nur wenig von der Theka interna follikuli.

Sieht man also von dieser Besonderheit der Granulosa follikuli ab, so finden wir in der Theca folliculi, in den Theca- und Granulosaluteinzellen, sowie in den interstitiellen Zellen und den Hiluszellen stets eine intensive Reaktion beim Nachweis der

- Isozitrat-DH	König (1962), Kern-Bontke (1964), Scully & Cohen (1964), Woodruff u.a. (1968)
- Glukose-6-Phosphat-DH	König (1962), Deane u.a. (1962), Woodruff u.a. (1963 u. 68), Scully & Cohen (1964), Fienberg & Cohen (1965)
- 6-Phospho-Glukonat-DH	König (1962), Woodruff u.a. (1963 u. 68)
- NADH-Diaphorase	Ikonen u.a. (1961), König (1962), Woodruff u.a. (1963)
- NADPH-Diaphorase	König (1962),

meist eine etwas schwächere Reaktion beim Nachweis der

- Succinat-DH	Foraker u.a. (1952 u.53), Meyer u.a. (1945), Ikonen u.a. (1961), König (1962) und Kern-Bontke (1964),

und eine negative Reaktion bei der

- Malat-Dehydrogenase — König (1962), Kern-Bontke (1964).

Diese weitgehende Übereinstimmung des Enzymmusters bei Theka-, Granulosa- und interstitiellen Zellen von Ovar und Hoden (Woodruff u.a. 1968) wird verständlich, wenn man bedenkt, daß der Hormonstoffwechsel nach heutiger Auffassung bis zur Synthese des Pregnenolon uniform verläuft und erst dann unterschiedliche Wege zur Bildung der einzelnen Geschlechtshormone benutzt (Karlson 1964).

Die 3-ß-ol-Steroid-Dehydrogenase, die vermutlich eine Schlüsselposition im Hormonstoffwechsel innehat, findet sich in der Theca folliculi in mittlerer Intensität, nicht aber in den Granulosazellen. Andererseits beobachtet man sowohl in den Theca-, als auch in den Granulosaluteinzellen des Corpus luteum, dem ja bekanntlich eine Progesteronbildung zugeschrieben wird, eine Aktivität dieses Enzymes (Wattenberg 1958, Ikonen u.a. 1961, Deane u.a. 1962, König 1962, Kern-Bontke 1964, Fienberg & Cohen 1965).[1)]

Goldberg et al. (1963 u. 1964) weisen darauf hin, daß sie dieses Enzym[2)] fast ausschließlich in solchen Geweben fanden, in denen eine Bildung von Progesteron vermutet wird (Corpus luteum, Nebenniere, Placenta) und warnen deshalb davor, aus einer positiven Reaktion auf die Bildung von Androgenen und Östrogenen zu schließen, da sie in den Zwischenzellen des Hodens und in verschiedenen östrogenaktiven Tumoren die 3-ß-ol-Steroid-Dehydrogenase vergebens nachzuweisen suchten.

Jones u.a. (1968) beobachten die 3-ß-ol-Steroid-Dehydrogenase in der Theca interna folliculi nicht regelmäßig. Sie erzielen mit dem Substrat Δ^4-Androsten – 3ß, 17ß-diol, nicht aber mit Dehydroepiandrosteron, eine positive Reaktion in den Hiluszellen des Ovars und in den Leydig'schen Zellen

---

1) Die Autoren benutzten als Substrat Dehydroepiandrosteron oder Pregnenolon.

2) (Substrat: Dehydroepiandrosteron).

des Hodens. Bei Theca-, Granulosa-, und Granulosaluteinzellen ergeben die beiden Substrate keine unterschiedlichen Ergebnisse.

Die ß-Hydroxy- Butyrat-Dehydrogenase ist nach König (1962) in allen Geweben des Ovars negativ. Kern-Bontke (1964) beschreibt jedoch eine Enzymaktivität in Theca- und Granulosaluteinzellen.

Die -Glycerophosphat-Dehydrogenase bietet ebenfalls keine Möglichkeit, Theka und Granulosa enzymhistochemisch zu unterscheiden. Sie kommt in beiden Geweben, wenn auch in unterschiedlicher Intensität vor (König 1962, Woodruff u.a. 1963, Kern-Bontke 1964).

Eine positive Reaktion der alkalischen Phosphatase (Ober 1950, McKay u.a. 1961, König 1962) und der Leucinaminopeptidase (Fuhrmann 1959, König 1962, Kern-Bontke 1964) sind spezifisch für die Theka interna follikuli und weitgehend auch für die Thekaluteinzellen. In der Granulosa folliculi findet sich keine und in der Granulosa des Corpus luteum nur in vereinzelten Zellen eine Enzymaktivität (Pfleiderer & Diezel 1959).

Die saure Phosphatase kommt in Theka und Granulosa während des gesamten Zyklus vor (McKay u.a. 1961, König 1962). Deane u.a. (1962) entdeckten zwar in atretischen, nicht aber in reifenden Follikeln eine positive Reaktion.

Die Publikationen über den Fett- und Lipoidgehalt des Ovars befassen sich meist nur am Rande mit den Verhältnissen im Follikel, so daß wir darüber nicht sehr genau Bescheid wissen. Nach McKay & Robinson (1947) und Fienberg & Cohen (1965) findet man sudanophile Substanzen, sowie Aldehyd- und Carbonylgruppen nur in der Theka interna, besonders des reiferen Follikels, nicht aber in den Granulosazellen.

Den Stoffgehalt des Corpus luteum unterzogen Pfleiderer & Diezel (1959) einer ausgedehnten histochemischen Untersuchung. Ihre Befunde zeigen, daß zwischen Granulosa und Theka weniger ein qualitativer als ein quantitiativer Unterschied besteht (vgl. Tabelle 5).

Tabelle 4: Enzymhistochemische Befunde an der Theca- und Granulosazellschicht, sowie den Zwischenzellen von Ovar und Testis[x)]

Enzyme	Reifender Follikel			Corpus luteum		Interstitielle Zellen	
	Theca int. a und b	Granulosa a	Granulosa b	Theca	Granulosa	Ovar	Testis[xx)]
Isozitrat-DH	++++	+	++	++	+++	++	++
Glucose-6-Phosphat-DH	+++	(+)	++	+++	+	++	+++
6-Phospho-Glukonat-DH	+++	(+)	++	+++	+++	+	+++
NADH-Diaphorase	+++	(+)	++	+++	+++	+	++++
NADPH-Diaphorase	++++	(+)	++	+++	+++	++	++++
Laktat-DH	++++	-	++	+++	+++	++	
Succinat-DH	+	-	++	++	++	+	+
3ß-ol-Steroid-DH[xxx)]	++	-	-/+	++	++	-/+	-
3ß-ol-Steroid-DH[xxxx)]	++	-	-/+	++	++		+
ß-OH-Butyrat-DH	-	-	-	-/++	-/++		++
a-Glycerophosphat-DH	-	-	-	-	-		
Alkalische Phosphatase	+++	-/+		+++	(+)	+	
Saure Phosphatase	-/++	-/++		++	++		
Leucinaminopeptidase	+++	-	-	+++	+		

a = Sekundär- und Tertiärfollikel b = Graffscher Follikel

x) Literatur siehe Text xxx) Substrat: Dehydroepiandrosteron

xx) Nach Woodruff u.a. 1968 xxxx) Substrat: Δ^4-Androsten-3ß, 17ß - diol

-/+ Unterschiedliche Befunde bei verschiedenen Autoren.

Sudanophile Substanzen, Aldehyd- und Carbonylgruppen (NAHD-Reaktion), sowie geringe Mengen an Kohlenhydraten (PAS-Reaktion) und Eiweißkörpern (Millon'sche Reaktion) lassen sich in beiden Gewebsformationen nachweisen. Lediglich eine relativ starke Kupferphthalocyaninreaktion (Phospholipoide) in den Granulosaluteinzellen während des Blütestadiums ist besonders hervorzuheben.

Das Auftreten von Cholesterin und die vermehrte Ansammlung von Neutralfetten in den Theka- und Granulosaluteinzellen geht mit der Involution des Corpus luteum einher (vgl. Brewer 1942, Weinhouse und Brewer 1942, McKay & Robinson 1947).

Tabelle 5: Fette, Lipoide, Kohlenhydrate und Eiweißkörper in Theca und Granulosa

	Reifender Follikel[x]		Corpus luteum [xx]					
	Theca	Granulosa	Vascularisationsstad.		Blütestadium		Involution	
			Th.	Gr.	Th.	Gr.	Th.	Gr.
Neutralfette	+++	-	ø	(+)	+	(+)	++	++
Cholesterin			ø	-	-	-	++	++
Aldehyde und Carbonylgruppen	+	-	ø	+	++	++	(+)	(+)
Phospholipoide			ø	+	(+)	++	+	+
Kohlenhydrate			ø	+	+	+	+	+
Eiweißkörper			ø	+	++	+	(+)	(+)

Th = Thecazellschicht, Gr. = Granulosazellschicht

x) Nach McKay & Robinson (1947), Deane u.a. (1962), Woodruff u.a. (1963), Fienberg & Cohen (1965).

xx) Nach Pfleiderer & Diezel (1959).

ø Theca in diesem Entwicklungsstadium des Corpus luteum nicht nachweisbar.

C. Material und Methodik

Die vorliegende Arbeit stützt sich auf ausgedehnte histochemische und enzymhistochemische Untersuchungen an 114 Ovarialtumoren von Frauen, die in der Zeit von Januar 1962 bis Juni 1967 in der Frauenklinik Tübingen zur Behandlung kamen (Tabelle 8). Die histologische Einteilung der Tumoren folgt dem Vorschlag der Internationalen Foederation der Gynäkologen und Geburtshelfer 1962 in Stockholm (Taylor 1962, Kottmeier 1965). Diese Gliederung beruht auf der vermutlichen Histogenese. Die überwiegende Mehrzahl aller Ovarialtumoren leitet sich vom Keimepithel ab. Tumoren des Gonadenstromas, der Keimzellen, congenitaler Reste und des Bindegewebes, sowie Mischtumoren kommen weniger häufig vor. Metastasen im Ovar sind keine Seltenheit.

Die klinischen Daten sind den Krankenjournalen entnommen.

Vorbehandlung der Gewebe

Kleine Gewebsstücke von etwa 2 x 2 x 0,5 cm werden noch im Operationssaal aus dem Tumor entnommen und anschließend sofort auf dem Objekttisch des Kryostaten[+)] mit Kohlensäure gefroren. Bis zum Schneiden verbleiben sie im Kryostaten. Ist der Temperaturausgleich des Gewebsblocks mit dem Kühlraum des Kryostaten eingetreten, werden 14 u dicke Schnitte angefertigt und auf nummerierte und vorgekühlte Objektträger aufgezogen. Sie verbleiben bis zur Färbung im Kryostaten. Diese Behandlung gewährt eine annähernd einheitliche Schnittdicke.

Die Schnitte gelangen innerhalb von 48 Stunden zur Färbung. Sie können aber auch ohne weiteres über 2-3 Tage im Kryostaten aufbewahrt werden. In dieser Zeit tritt keine Änderung der Anfärbungsstärke oder der Enzymverteilung ein. Nur bei der Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase ist an einen Enzymverlust durch Kälteeinwirkung zu denken.

+) Modell Dittes-Duspiva, W. Dittes, Heidelberg, Bergstr. 116.

Eine exakte Gewebedarstellung setzt einen langwierigen Fixierungs- und Einbettungsvorgang voraus. Fixierungsmittel bewirken aber in vielen Fällen eine Inaktivierung der Enzyme. Wir benutzten deshalb bei den Enzymreaktionen stets unfixierte Gefrierschnitte.

Zum Nachweis von Fetten und Lipoiden dienten formalin- oder formalinkalziumfixierte Kryostatschnitte.

Im einzelnen wurden folgende Untersuchungen vorgenommen[+].

A. Oxydoreduktasen

1. NADH- und NADPH-Cytochrom-c-Reduktasen

Die Methode geht auf Scarpelli u.a. (1958) zurück. Wir benutzten die Modifikation von Nasu & Viale (1961).

Der Nachweis der verschiedenen NAD- bzw. NADP- abhängigen Dehydrogenasen folgt im wesentlichen den methodischen Angaben von Hess u.a. (1958) und Pearse (1960).

2. Laktat-Dehydrogenase
3. Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase
4. 6-Phospho-Gluconat-Dehydrogenase
5. Isozitrat-Dehydrogenase
6. Malat-Dehydrogenase
7. alpha-Glycerophosphat-Dehydrogenase
8. ß-Hydroxybutyrat-Dehydrogenase
9. Glutamat-Dehydrogenase
10. Succinat-Dehydrogenase
    Die Succinat-Dehydrogenase ist nicht coenzymabhängig. Die Anwendung des Farbstoffs Nitro-BT durch Nachlas u.a. (1957) machte es möglich, dieses Enzym an dünnen Kryostatschnitten zu untersuchen. Eine Beigabe von Aktivatoren zur Inkubationslösung verbessert die Darstellung (Goebel & Puchtler 1955).

[+] Einzelheiten der Methodik bei Pearse (1960) und Pfleiderer (1966).

11. 3ß-ol-Steroid-Dehydrogenase (Substrat: Dehydroepiandrosteron)
Zur Darstellung der 3ß-ol-Steroid-Dehydrogenase benutzten wir die Methode nach Wattenberg (1958), sowie die Modifikationen nach Levy u.a. (1959) und Fuhrmann (1961). Vermutlich katalysiert sie die Umwandlung von Pregnenolon zu Progesteron und Dehydroepiandrosteron zu Androstendion.
12. 17ß-Östradiol-Dehydrogenase
Pearson & Grose (1959) führten ihre Methode zum Nachweis einer NADP-abhängigen 17ß-Östradiol-Dehydrogenase ein (vgl. auch Kellog & Glenner 1960). Das Enzym katalysiert die Umwandlung von 17ß-Östradiol zu Östron.
13. Cytochromoxydase nach Burstone (1959).

B. Hydrolasen

1. Unspezifische alkalische Phosphatase
Azokupplungsmethode nach Menten, Junge & Green (1941) in der Modifikation nach Pearse (1960). Die Rolle dieses Enzyms im Stoffwechsel und seine Lokalisation in der Zelle sind noch nicht vollkommen geklärt. In-vitro wird ausschließlich die hydrolytische Wirkung erfaßt (Baldwin 1952, Morton 1953).
2. Unspezifische saure Phosphatase
Azokupplungsmethode (Simultankupplung) nach Seligman & Manheimer (1949) in der Modifikation von Pearse (1960).
3. Adenosintriphosphatasen
Kalziumsalzmethode nach Padykula & Herman (1955).
4. Unspezifische Esterasen (Naphthylacetat-Esterasen)
Methode nach Nachlas & Seligman (1949) in der Modifikation von Gomori (1950) und Pearse (1960) unter Verwendung von a-Naphthylacetat.
5. Aminopeptidasen
nach der Methode von Nachlas u.a. (1957) unter Verwendung des Substrates 1-Leucyl-ß-naphthylamid. Die Spezifität dieser Methode ist relativ gering, so daß sicherlich nicht nur die Leucinaminopeptidase mit ihr nachgewiesen wird. Mit einem anderen Substrat, 1-Leucyl-4-methoxy-ß-naphthylamid, erzielten Nachlas u.a. (1960)

im Gegensatz zu Burstone & Weisburger (1961) eine bessere Lokalisation.

6. ß-Galactosidasen (Rutenberg u.a. 1958).
7. ß-Glucuronidase (Azokupplung, Pearse 1960).
8. 5-Nucleotidase (Wachstein & Meisel 1955).
9. Aldolase (Abé & Shimizu 1964).
   Die Aldolase ist ein zentrales Enzym des Kohlenhydratstoffwechsels.

C. Reaktionen zum Nachweis der Kohlenhydrate[+)]

1. P A S - Reaktion (Periodic Acid-Schiff Technique) am unfixierten, am formalinfixierten und am Carnoy-fixierten Kryostatschnitt zum Nachweis der Kohlenhydrate, insbesondere von Glycogen, Mucoproteinen und neutralen Mucopolysacchariden.
2. Diastase-Vorbehandlung mit anschließender PAS-Reaktion zum Nachweis des Glycogens.
3. Färbung nach Best zum Nachweis von Glycogen.
4. Alcian-Färbung nach Pioch (1957) zum Nachweis von sauren Mucopolysacchariden.
5. Toluidinblaufärbung (metachromatische Substanzen).

D. Methoden zur Darstellung der Fette und Lipoide[+)]

1. Sudanschwarz in 70 % Alkohol
   Fette und Lipoide färben sich schwarz. Im polarisierten Licht oder im Dunkelfeld leuchten Phosphorlipoide orangerot auf.
2. Ölrot O färbt Neutralfette.
3. Scharlachrot dient dem Nachweis von Neutralfetten.
4. Nilblau-Methode
   Nach Cain (1947) ermöglicht diese Methode die Darstellung von Neutralfetten und sauren Lipoiden. Menschik (1953) dagegen glaubt nur an eine Anfärbung der Phospholipoide.

[+)] Einzelheiten der Methodik bei Diezel (1957), Pfleiderer & Diezel (1959), Pearse (1960).

5. Die Methode nach Schnabel (1962 und 1964)
eignet sich speziell zum Nachweis von freiem und verestertem Cholesterin. Bei unseren Untersuchungen bestimmten wir nur das Gesamt-Cholesterin. Eine weitergehende Auftrennung in die beiden Teilkomponenten war angesichts der geringen Mengen an Substrat nicht möglich. Das Auftreten der charakteristischen grünen Färbung ist an Temperaturen um $0^{\circ}C$ gebunden. Zur Entfernung des Cholesterins wurden Kontrollschnitte 24 Stunden in Aceton eingelegt.

6. Mit der Reaktion nach Ashbell-Seligman
lassen sich Aldehyd- und Carbonylgruppen zur Darstellung bringen. Sie ist deshalb nicht für Ketosteroide speziell geeignet. Die Extraktion der Kontrollschnitte mit Aceton führte zu einer deutlichen Minderung der Reaktionsstärke. Erst eine zusätzliche Extraktion mit Chloroform, dann Äther und abschließend in absolutem Alkohol vermochte sämtliches reaktives Material aus den Schnitten zu entfernen. Dieser Befund weist darauf hin, daß außer Ketosteroiden auch nicht acetonlösliche Lipoide mit dieser Reaktion erfaßt werden.

7. Die Reaktion nach Baker (1946 und 1947)
dient dem Nachweis von Phospholipoiden. Die Kontrollschnitte werden mit Pyridin extrahiert. Zu gleichen Ergebnissen führt eine Extraktion mit Chloroform, Äther und Alkohol.

8. Kupferphthalocyanin-Reaktion (C P R)
Diese Methode nach Klüver & Barrera (1953) benutzt Luxol fast blue B, ein Kupferphthalocyanin, zur Darstellung von Phospholipoiden. Pearse (1961) macht Lipoproteide für den Färbeeffekt verantwortlich. Die Kontrollschnitte werden mit Chloroform, Äther und absolutem Alkohol extrahiert. Keine nennenswerte Minderung des färbbaren Materials bewirkt eine Extraktion mit Aceton.

9. Mit der Reaktion nach Ingelman - Sundberg (1958)
lassen sich nach Angaben des Autors Östrogene, insbesondere Östradiol nachweisen. Entsprechende Nachunter-

suchungen sind aus der Literatur nicht bekannt. Die Beurteilung der Präparate ist oft erschwert, da die Gewebestrukturen unter dem Angriff des Schwefelsäure-Arsensäuregemisches relativ rasch aufgelöst werden.

E. Kontrolluntersuchungen

Bei Enzymnachweisreaktionen wurde stets ein Schnitt ohne Substrat inkubiert. Er zeigt die endogene Dehydrogenase. Die mitgeteilten Beobachtungen beziehen sich auf die Differenz der Reaktionsstärke zu dieser endogenen Dehydrogenase. Eine vorhergehende Enzyminaktivierung (Formalin, Aceton, Hitze) an etwa 10 Kontrollfällen sicherte die Ergebnisse außerdem.

Bei Enzymen, die sich in den Ovarialtumoren nicht oder nur selten nachweisen ließen, wurden Gewebsschnitte geeigneter Organe der Ratte in den Reaktionen mitgeführt, um methodische Fehler sicher ausschließen zu können.

Bei Fett- und Lipoidfärbungen wurden die Kontrollschnitte mit geeigneten Extraktionsmitteln vorbehandelt und anschließend in der Reaktion mitgeführt. Gleichzeitig behandelten wir Schnitte von der Nebenniere und aus dem Gehirn oder aus anderen geeigneten Organen der Ratte in derselben Weise, um den Erfolg der einzelnen Färbung in jedem Fall überprüfen zu können.

D. Ergebnisse

I. Morphologie und Histochemie enzymaktiver Stromazellen

Enzymaktive Stromazellen lassen sich relativ leicht im Stroma von Ovarialtumoren nachweisen, sofern man eine geeignete Enzymreaktion dazu benutzt. Insbesondere bei der Isozitrat-, der Glukose-6-Phosphat-, der Laktat-, der 6-Phosphogluconat- und der Malat-Dehydrogenase, sowie der NADH- und NADPH-Diaphorase beobachten wir einen intensiven Formazanniederschlag in diesen Zellen (vgl. Tabelle 6).

Um zu gewährleisten, daß bei einer fehlerhaften Durchführung einer Reaktion nicht fälschlicherweise ein Fehlen der enzymaktiven Stromazellen angenommen würde, berücksichtigten wir in unserer Serie nur solche Tumoren, bei denen mindestens 2 der genannten 7 Enzyme nachgewiesen waren.

Als weiteres Kriterium zur Identifizierung der enzymaktiven Stromazellen diente uns deren typische Anordnung in den vorwiegend drüsig wachsenden Ovarialtumoren. Meist nämlich liegen mehrere Zellen (ungefähr 3-20) beisammen und bilden Zellhaufen, die bei geringer Vergrößerung als tiefblaue Flecken inmitten eines weitgehend inaktiven Tumorstromas imponieren. Mit zunehmender Vergrößerung werden die blaßblauen Zellkerne in den enzymaktiven Arealen sichtbar. Auf Grund des intensiven Formazanniederschlags lassen sich die Zellen nicht gegeneinander abgrenzen. Lediglich bei vereinzelt im Stroma liegenden enzymaktiven Zellen können wir in etwa die Zellform erkennen.

In allen 31 Fällen finden wir relativ kleine gerundete oder polygonale enzymaktive Stromazellen mit einem längsovalen Kern. Die Kernplasmarelation beträgt etwa 1:1.

Gelegentlich (6 Fälle) beobachten wir aber auch Zellen mit einem gestreckten, zuweilen sogar geschlängelten Kern, wie wir ihn bei Fibrozyten antreffen. An beiden Enden sitzt ihm breitbasig das zipflig ausgezogene, enzymaktive Cytoplasma auf. Der Anteil dieser Zellen ist stets sehr gering (ca. 5 %).

In 9 Fällen finden wir gleichzeitig vereinzelt größere, polygonale Zellformen mit vermehrtem Cytoplasma, die an luteinisierte Stromazellen erinnern.
Die enzymaktiven Stromazellen können so in Fibrozyten, in thekaähnliche und in luteinisierte Stromazellen unterteilt werden. Der Anteil der einzelnen Zellformen wechselt von Tumor zu Tumor.

Thekaähnliche Zellen entsprechen in ihrer Form den Zellen der Theka interna. Der längsovale Zellkern enthält gewöhnlich 1-2 Nucleolen. Das spärliche Cytoplasma ist homogen, mäßig eosinfarben und wenig granuliert.

Die polygonalen luteinisierten Stromazellen haben ähnliche Kerne. Das Cytoplasma ist jedoch vermehrt, homogen und nur leicht eosinfarben granuliert, so daß es in den HE-Schnitten blaß erscheint.

Um über die Morphologie der enzymaktiven Stromazellen Aufschluß zu erhalten, versuchten wir, sie in aufeinanderfolgenden Serienschnitten wiederzuerkennen. Das bereitet meist große Schwierigkeiten, da sich die Zellen nicht durch eine besonders markante Zell- oder Kernform auszeichnen. Gleiche Stellen in den Präparaten, die es erlaubt hätten, Stromazellen mit Sicherheit als enzymaktive Zellen zu identifizieren, konnten oft nicht gefunden werden, da eine Orientierung in den vorwiegend drüsig, cystisch oder alveolär wachsenden Tumoren nur in Ausnahmefällen möglich ist.

Die relativ einfachen und einprägsamen Strukturen der Granulosa-theka-zelltumoren erleichtern das Aufsuchen identischer Stellen in den Schnitten. Beim Vergleich mit den Enzymreaktionen finden sich bei der HE-Färbung im Bindegewebe keine besonders hervortretenden Zellgruppen. Bei manchen gut abgegrenzten Tumorpartien ist das Vorkommen der enzymaktiven Stromazellen auf die Zone der reproduktiven Bindegewebsproliferation (Schmidt-Matthiesen 1958) beschränkt. Größere Bezirke mit luteinisierten Stromazellen weisen keine positive Reaktion auf. Einzelne luteinisierte Zellen oder kleinere Zellgruppen in den Septen sind jedoch zum Teil enzymaktiv.
Die Thecaanteile der Granulosa-theca-zelltumoren enthalten

ebenfalls Gruppen enzymaktiver Zellen.

Bei einem Thekazelltumor ist nur in den nicht luteinisierten, kernreichen und cytoplasmaarmen Partien eine Enzymaktivität zu beobachten.

Bei 2 endometrioiden Tumoren und 3 mucinösen Kystomen läßt sich die Enzymaktivität ebenfalls in thekaähnliche Zellen lokalisieren. Obwohl das Stroma der Tumoren weitgehend aus solchen Zellen besteht, reagiert nur ein Teil von ihnen positiv. Im Einzelfall läßt sich also eine inaktive Stromazelle nicht von einer aktiven Nachbarzelle unterscheiden.

Wir können damit feststellen, daß die Form einer Stromazelle, gleichgültig, ob es sich um einen gewöhnlichen Fibrozyten, eine thekaähnliche oder eine luteinisierte Zelle handelt, keinerlei Aufschluß über ihre Enzymaktivität zu geben vermag.

Die Untersuchungen über den Stoff- und Enzymgehalt der enzymaktiven Stromazellen führten zu folgenden Ergebnissen:

a) Neutralfette und Lipoide

An thecaähnlichen und luteinisierten Stromazellen fallen die meisten Fettfärbungen (Sudanschwarz B, Ölrot O, Scharlachrot; vgl. Tab. 6) positiv aus. Eine Ausnahme bilden 2 mucinöse Kystome mit zahlreichen enzymaktiven Stromazellen. Insgesamt scheint aber auch bei anderenTumoren die Zahl der fetthaltigen Zellen geringer zu sein als die der enzymaktiven. Die Reaktionsstärke der ß-Hydroxy-Butyrat-Dehydrogenase und der Fettgehalt der enzymaktivenStromazellen entsprechen sich in 60 % der Fälle.

Eine positive Cholesteänreaktion (frei und verestert) findet sich nur in 2 von 5 Fällen (bei einem endometrioiden Carcinom und einem mucinösen Kystom). Tritt Cholesterin auf, so ist außerdem die Zahl der positiven Stromazellen erheblich geringer als die der enzymaktiven. Das Vorkommen von Cholesterin ist meist auf luteinisierte Stromazellen beschränkt. Eine eindeutige Identifizierung der cholesterin-positiven

Zellen als enzymaktive Stromazellen ist oft schwierig. Für ihre Identität spricht ihre Form und ihre typische Anordnung. Im Einzelfall ist jedoch nicht auszuschließen, daß auch nicht oder nicht mehr enzymaktive Stromazellen eine Cholesterinreaktion zeigen.

Die Beurteilung der Kupferphthalocyanin-Reaktion ist meist schwierig. Abgesehen von einem eindeutig positiven Thekazelltumor können wir bei den anderen Tumoren keine sicheren Aussagen machen, da sich der Farbstoff an den Bindegewebsfasern des Stromas niederschlägt und die enzymaktiven Stromazellen nicht selektiv gefärbt werden.

Die Reaktion nach Ashbell-Seligman zum Nachweis von Carbonyl- und Aldehydgruppen verläuft negativ. Ebenso verhält es sich mit der Baker-Reaktion.

b) Kohlenhydrate

Die negative PAS-Reaktion deutet darauf hin, daß der Gehalt der enzymaktiven Stromazellen an Kohlenhydraten äußerst gering ist. Die Färbung nach Best, sowie die Astrablau- und die Alcianblaufärbung weisen in dieselbe Richtung.

c) Oxydoreduktasen

Die enzymaktiven Stromazellen zeichnen sich durch ein charakteristisches und weitgehend einheitliches Enzymmuster aus. Es ist - soweit die 31 Fälle erkennen lassen - unabhängig vom histologischen Typ des Tumors (Tabelle 7). Erst ein noch größeres Material wird jedoch hierüber ein abschließendes Urteil erlauben.

In fast allen Fällen können wir mit einer besonders intensiven Reaktion der relativ unspezifischen NADH- und NADPH-Cytochrom-c-Reduktase rechnen. Die NADP-abhängigen Enzyme Isozitrat-, Glucose-6-Phosphat- und 6-Phosphogluconat-Dehydrogenase reagieren nur wenig schwächer. Unter den NADH-abhängigen Enzymen finden wir besonders bei der Laktat- und der Malat-Dehydrogenase eine positive Reaktion. Die Cytochromoxydase beobachten wir in 45-55 % der Fälle.

Auch die ß-OH-Butyrat-Dehydrogenase (40-65 %) und die 3-ß-Ol-Steroid-Dehydrogenase (24-33 %) lassen sich nur in einem Teil der Fälle nachweisen. Eine Übereinstimmung beider Enzyme in der Intensität der Reaktion, wie man es nach Niemi & Ikonen (1962) erwarten könnte, läßt sich an unserem Material nicht bestätigen. Die Reaktionsstärke ist nur in 41 % der Fälle konkordant.

Sehr selten finden wir eine positive Reaktion der a-Glycerophosphat-Dehydrogenase. Die Succinat-, die Glutamat- und die 17-ß-Östradiol-Dehydrogenase sind fast ausnahmslos negativ.

d) Hydrolasen

Die alkalische Phosphatase ist die einzige Hydrolase, die beständig positiv reagiert. Dazu ist allerdings zu bemerken, daß die Enzymaktivität nicht in jedem Fall mit völliger Sicherheit in den enzymaktiven Stromazellen lokalisiert werden kann.

Vor demselben Problem stehen wir bei der Beurteilung der Leucinaminopeptidase. Bei insgesamt 26 Ovarialtumoren reagiert das Enzym 9 mal positiv und 12 mal negativ. In den restlichen 5 Fällen ist die Reaktion schwach und nur in wenigen Zellen oder Zellgruppen anzutreffen, die nicht ganz sicher als enzymaktive Stromazellen identifiziert werden können. In allen positiven Fällen beobachten wir gleichzeitig Fettsubstanzen in den enzymaktiven Stromazellen.

Die ß-Galaktosidase und die unspezifischen Esterasen sind nur gelegentlich und dann nur schwach positiv.

Tabelle 6: Histochemie der enzymaktiven Stromazellen

	Anzahl der Reaktionen	Reaktionsstärke	Positive Reaktionen	schwach oder fraglich pos. Reaktionen	negative Reaktionen
1. Oxydoreduktasen					
NADH-Cytochrom-c-Redukt.	21	++++	95 %	-	5 %
NADPH-Cytochrom-c-Redukt.	17	++++	100 %	-	-
Glucose-6-Phosphat-DH	20	+++	95 %	-	5 %
Isozitrat-DH	19	+++	100 %	-	-
Laktat-DH	26	++	85 %	11 %	4 %
6-Phospho-Gluconat-DH	19	++	84 %	5 %	11 %
Malat-DH	21	++	81 %	14 %	5 %
Cytochrom-Oxydase	11	+	45 %	10 %	45 %
ß-OH-Butyrat-DH	20	+	40 %	25 %	35 %
3-ß-ol-Steroid-DH	21	+	24 %	9 %	67 %
a-Glycerophosphat-DH	20	+	15 %	15 %	70 %
Succinat-DH	19	-	-	16 %	84 %
Glutamat-DH	18	-	6 %	22 %	72 %
17-ß-Östradiol-DH	5	-	-	-	100 %
2. Hydrolasen					
Alkalische Phosphatase	22	++	45 %	55 %	-
Saure Phosphatase	20	-	-	10 %	90 %
Aminopeptidasen	26	+	35 %	19 %	46 %
ß-Galactosidase	7	+	29 %	57 %	14 %
ATP-asen	18	-	6 %	22 %	72 %
Glucose-6-Phosphatase	6	-	-	-	100 %
Aldolase	6	-	-	17 %	83 %
5-Nucleotidase	11	-	-	9 %	91 %
Unspezif. Esterasen	29	+	14 %	28 %	58 %

Tabelle 6

Lipide	Anzahl der Reaktionen	Reaktionsstärke	positive Reaktionen	schwach oder fraglich pos. Reaktionen	negative Reaktionen
Sudanschwarz B	25	+++	76 %	16 %	8 %
Ölrot O	13	++	61 %	31 %	8 %
Gesamtcholesterin	5	+ vereinz. Zellen	40 %	-	60 %
Scharlachrot	19	++	63 %	11 %	26 %
Nilblau	14	blau			
Ashbell-Seligman	5	-	-	-	100 %
Baker-Reaktion	5	-	-	-	100 %
C P R - Reaktion	12	(+)	8 %	92 %	0 %
Östrogene	5	-	-	-	100 %
4. Kohlenhydrate					
P A S - Reaktion	20	-	-	25 %	75 %
Best Carmin	15	-	-	20 %	80 %
Alcianblau	12	-	-	8 %	92 %
Astrablau	13	-	-	8 %	92 %

Tabelle 7: Enzymgehalt der EASC bei den einzelnen Tumortypen

	Typ des Tumors						
Oxydoreduktasen	C_1	C_2	C_3	C_4	Gr	Th	M
NADH-Cytochrom-c-Redukt.	100 %	100 %	100 %	100 %		100 %	100 %
NADPH-Cytochrom-c-Redukt.	100 %	100 %	100 %	100 %		100 %	100 %
Glucose-6-Phosphat-DH	100 %	100 %	86 %	100 %	100 %	100 %	100 %
Isozitrat-DH	100 %	100 %	100 %	100 %		100 %	100 %
Laktat-DH	100 %	100 %	84 %	100 %	100 %	100 %	100 %
6-Phospho-Gluconat-DH	100 %	100 %	71 %	100 %	100 %	100 %	100 %
Malat-DH	100 %	100 %	86 %	0 %	100 %	100 %	100 %
Cytochrom-Oxydase	100 %	50 %	0 %	100 %		100 %	0 %
ß-OH-Butyrat-DH	0 %	86 %	71 %	0 %	67 %	100 %	100 %
3ß-ol-Steroid-DH	100 %	14 %	16 %	0 %	67 %		100 %
a-Glycerophosphat-DH	50 %	16 %	33 %	0 %	0 %		33 %
Hydrolasen							
Alkalische Phosphatase	100 %	84 %	84 %	100 %		100 %	100 %
Aminopeptidasen	100 %	40 %	50 %	100 %	100 %	0 %	0 %

% = positive Reaktionen.
C_1 = Seröse Kystome (4 Fälle); C_2 = Mucinöse Kystome (10 Fälle); C_3 = Endometrioide Carcinome (8 Fälle); C_4 = Unklassifizierbare Carcinome (1 Fall); Gr = Granulosazelltumoren (3 Fälle); Th = Thecazelltumoren (2 Fälle); M = Metastasen (3 Fälle)

II. Vorkommen der enzymaktiven Stromazellen (EASC)

1. Gesamtübersicht

Bei 85 der insgesamt 114 eingehend untersuchten Gewebsproben stammte das Material aus dem vom Tumor befallenen Ovar. Die restlichen 29 Proben sind aus Metastasen im Netz, in der Leber oder dem Peritoneum entnommen.

Unter den 85 Gewebsproben befinden sich 5 Granulosa- und 2 Thekazelltumoren.

Bei 31 Tumoren (37 %) - darunter 3 Granulosa- und die beiden Thekazelltumoren - können wir enzymaktive Stromazellen nachweisen. Diese Zellen sind nur in Gewebsschnitten aus dem Ovar selbst zu finden. In den Metastasen eines primären malignen Ovarialtumors jeglicher Lokalisation fehlen sie immer.

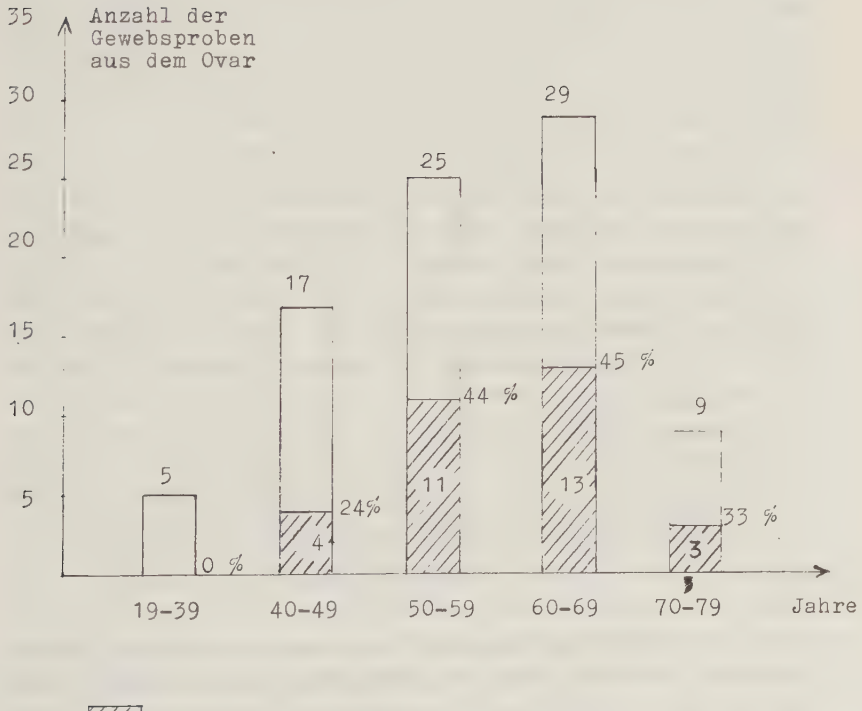
Von den genannten 85 Frauen waren zuvor 16 mit einem Zytostatikum (Endoxan, Trenimon, E 39) behandelt worden. 5 Frauen erhielten Röntgen- oder Radiumbestrahlungen und zusätzlich eines der Zytostatika. Weitere 3 Frauen waren nur bestrahlt worden. Enzymaktive Stromazellen be obachten wir 3 mal bei den mit einem Zytostatikum (Endoxan) anbehandelten Frauen, nicht aber, wenn eine Bestrahlung vorausgegangen war.

2. Alter der Tumorträgerin

Nur Gewebsproben aus dem Ovar dürfen berücksichtigt werden, wenn wir Aussagen über die Verteilung der enzymaktiven Stromazellen bei den verschiedenen Altersgruppen machen wollen, da wir auf Grund von Metastasen allein nicht auf das Vorhandensein dieser Zellen in den Ovarialtumoren schließen können.

Bei den Tumoren älterer Frauen finden wir enzymaktive Stromazellen häufiger, wenn auch die kleinen Zahlen natürlich keine sichere Beurteilung zulassen. Von 22 Patientinnen unter 50 Jahren hatten nur 4 (18 %), von den 63 Frauen über 50 Jahren dagegen 27 (43 %) enzymaktive Stromazellen (vgl. Abb. 1).

Abb. 1: Altersverteilung der enzymaktiven Stromazellen



3. Der histologische Typ des Tumors

Die Malignität des Tumors ist für das Auftreten von enzymaktiven Stromazellen von untergeordneter Bedeutung.

Bei 5 Granulosazelltumoren (3)+, 51 primären Ovarialcarcinomen (16)+ und 9 metastatischen (3)+ finden wir in 22 Fällen (32 %) enzymaktive Stromazellen.

Bei 19 gutartigen Tumoren - darunter 2 Thekazelltumoren (2)+, 15 Kystome (7)+, 3 Fibrome und ein Brennertumor - beobachten wir sie etwas häufiger (47 % der Fälle).

Anders verhält es sich mit dem histologischen Typ des Tumors:

a) Enzymaktive Stromazellen in Granulosa- und Thekazelltumoren

Histologisch lassen sich bei unseren Granulosazelltumoren verschiedene Wachstumsformen unterscheiden:

Bei drei Fällen findet sich der typische Aufbau der Granulosazelltumoren. Der Tumor wächst in großen, soliden, runden oder ovalen Bezirken. Zwischen den einzelnen Tumoranteilen, die scharf gegen das umgebende Bindegewebe abgegrenzt sind, entstehen unterschiedlich breite, oft auch nur schmale Septen, in denen sich enzymaktive Stromazellen nachweisen lassen. Bei geeigneten Enzymreaktionen zeigt sich ein kräftiger Formazanniederschlag rings um die inaktiven Tumorgewebsinseln. In Tumorpartien, die sich nicht so scharf gegen das Ovarialstroma abgrenzen, sind nur gelegentlich Zellgruppen mit vermehrter Enzymaktivität zu beobachten, bei denen es sich sehr wahrscheinlich um Thekaelemente handelt.

Der vierte Tumor durchdringt feingliedrig in zahllosen, soliden Gewebssprossen das Ovarialstroma. Eine mäßige Enzymaktivität und eine positive Sudanschwarz B-Färbung in Teilen des Tumors kennzeichnen Thekaelemente. Enzymaktive Stromazellen sind dagegen nicht zu finden.

+ Fälle mit EASC in Klammern.

Ungewöhnliche Wachstumsstrukturen weist der 5. Granulosazelltumor** auf. Auch er durchsetzt feingliedrig in dünnen langen Epithelsträngen das Ovarialstroma. Höhlenbildungen in soliden Gewebsanteilen geben ihm sogar teilweise das Aussehen eines Zyst-Adenocarcinoms. An manchen Stellen wächst der Tumor papillär. Im Stroma sind keine enzymaktiven Zellen nachzuweisen.

Die beiden Thekazelltumoren unterscheiden sich nicht wesentlich von den Thekaelementen der Granulosa-theka-zelltumoren. Eine Enzymaktivität ist hier aber nicht in allen Tumoranteilen, sondern nur in umschriebenen Zellgruppen vorhanden, denen in HE gefärbten Serien-Schnitten cytoplasmaarme Thekazellen entsprechen. Luteinisierte Stromazellen in unmittelbarer Nähe reagieren fast immer negativ.

b) Enzymaktive Stromazellen in Tumoren des Keimepithels

Pseudomucinöse Kystome und mucinöse Carcinome enthalten in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle (83 %), endometrioide Carcinome sehr häufig (53 %) enzymaktive Stromazellen. Im Gegensatz dazu steht das seltene Vorkommen dieser Zellen bei den serösen Kystomen, papillär-serösen Carcinomen (14 %) und den unklassifizierbaren Carcinomen des Keimepithels (11 %).

Pseudomucinkystome lassen sich leicht an ihren zum Teil recht großen, glatt begrenzten Cysten erkennen, die mit einem einschichtigen Schleimepithel ausgekleidet sind. Die mucinösen Carcinome unterscheiden sich oft nur wenig von ihnen. Das Epithel ist weniger gut ausdifferenziert, wird mehrschichtig und erhebt sich in vereinzelten, meist kleinen und plumpen Papillen von der Cystenwand. Gelegentlich finden wir auch ausgesprochen drüsige Formationen. In den Septen zwischen den einzelnen Drüsen bzw. Cysten, besonders am Fuße der Papillen, liegen (bei 10 von 12 Fällen) bevorzugt die enzymaktiven Stromazellen.

** Diagnose: Prof. Dr. E. Letterer.

Die endometrioiden Adeno-Carcinome bestehen in der Regel aus mittelgroßen Läppchen mit Drüsenlumina, die sich gut gegen das umgebende Ovarialstroma abgrenzen. Die Unterscheidung von mucinösen Kystomen ist nicht in jedem Fall einfach. Auch bei diesen Tumoren (bei 8 von 15) liegen die enzymaktiven Stromazellen in den meist schmalen Septen zwischen den drüsigen Tumorpartien.

Das hervorstechendste Merkmal der serösen Kystome ist ihr ausgeprägtes papilläres Wachstum. Bei den benignen Cystadenomen treten oft schon einfache und plumpe Papillen mit meist derbem Bindegewebe auf. Mit zunehmendem Malignitätsgrad werden sie feiner und in ihrem Aufbau komplizierter. Das Stroma schwindet mehr und mehr. Gelegentlich beobachten wir sogar seröse Carcinome mit ausgedehnten soliden Partien. Enzymaktive Stromazellen finden wir unter 29 solchen Tumoren nur bei 3 gut ausdifferenzierten papillären und bei einem soliden Carcinom, das sich gegen das Ovarialstroma abgrenzt.

Die unklassifizierbaren Carcinome des Keimepithels sind so weitgehend entdifferenziert, daß sie sich nicht mehr in eine der zuvor erwähnten Kategorien einordnen lassen. Ein charakteristischer Aufbau der Tumoren fehlt. Papilläre, drüsige oder solide Strukturen können das Bild bestimmen. Die Carcinome infiltrieren das Ovarialstroma meist feingliedrig oder in losen Zellgruppen, gelegentlich aber auch breitbasig. Enzymaktive Stromazellen beobachten wir nur bei 1 in größeren soliden Partien wachsenden Carcinom, das sich nicht sicher von einem Granulosazelltumor unterscheiden läßt.

c) Enzymaktive Stromazellen bei sekundären Ovarialcarcinomen

Bei Metastasen im Ovar ist für das Vorkommen der enzymaktiven Stromazellen die Lokalisation der Primärtumoren von untergeordneter Bedeutung. Viel wichtiger scheint der histologische Typ der Metastase zu sein.

Bei drüsigen, in größeren Läppchen wachsenden Metastasen von 1 Carcinom des Rectums und 1 des Sigmoids, sowie bei

einer alveolär wachsenden Metastase eines Magencarcinoms sind enzymaktive Stromazellen vorhanden, nicht aber bei 3 entdifferenzierten Carcinomen, die feingliedrig das Ovarialstroma infiltrieren.

Auch bei einem scirrhös wachsenden Mammacarcinom, einem nekrotischen und schwer zu beurteilenden Plattenepithelcarcinom der Gallenblase sowie einem papillär-serösen Tubencarcinom, das vorwiegend in sehr schmalen Ausläufern das Ovarialstroma durchwuchert, fehlen solche Zellen.

Zusammenfassend können wir damit feststellen, daß enzymaktive Stromazellen immer dann auftreten, wenn im Ovar ein Tumor in größeren Zysten, in größeren soliden gut abgegrenzten Komplexen, in Drüsen oder in Läppchen wächst. Vorzugsweise in große Zysten hinein- oder auf der Oberfläche exophytisch wachsende, papilläre Neoplasmen und stark infiltrierende maligne Tumoren enthalten solche Zellen dagegen viel seltener. Es ist dabei gleichgültig, ob der Tumor primär im Ovarium entstanden ist oder nicht.

Tabelle 8: Vorkommen der enzymaktiven Stromazellen (EASC)

	Gewebe aus dem Ovar	Fälle mit EASC	Gewebe von Metastasen	Fälle mit EASC
Tumoren des Keimstromas	7	5	1	0
Granulosazelltumoren	5	3	1	
Thekazelltumoren	2	2	-	
Keimzelltumoren	0		1	0
Teratome	0		1	
Tumoren des Keimepithels	65	23	27	0
Seröser Typ	29	4	16	
Mucinöser Typ	12	10	1	
Endometrioider Typ	15	8	3	
Unklassifizierbare Carcinome	9	1	7	
Tumoren congenitaler Reste	1	0	0	
Brennertumoren	1	0		
Tumoren des Bindegewebes	3	0	0	
Fibrome	3	0		
Metastatische Ovarialcarcinome	9	3	-	-
Adenocarcinome (primär: Magen, Rectum Sigmoid)	3	3		
Papillär-seröses Carcinom (primär: Tube)	1	0		
Diffus wachsende, undifferenzierte Carcinome (primär: 2 x Magen Gallenblase	3	0		
Scirrhöses Carcinom (primär: Mamma)	1	0		
Plattenepithelcarcinom (primär: Gallenblase)	1	0		
	85	31	29	0

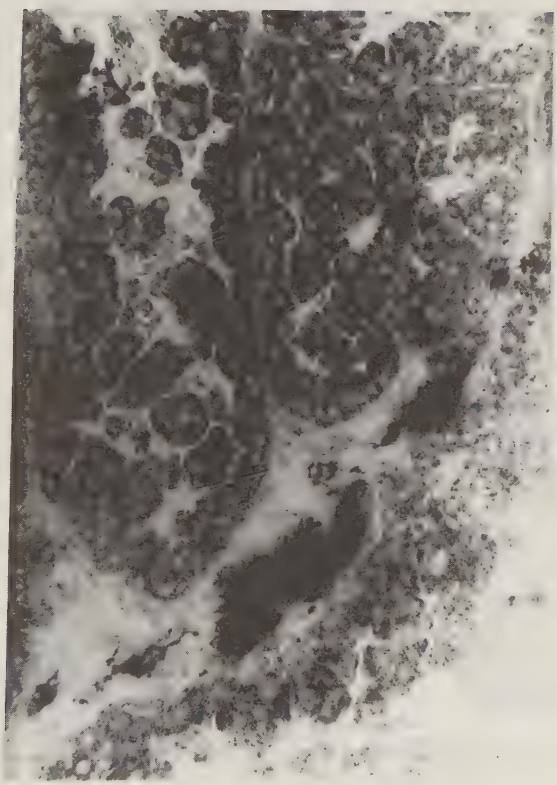


Abb. 2: Adenocarcinom des Ovars. Seröser Typ. Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase. Starke Reaktion in den enzymaktiven Stromazellen (x 64).

Abb. 3: Adenocarcinom des Ovars. Endometrioider Typ. Isozitrat-Dehydrogenase. Stark positive Reaktion in den enzymaktiven Stromazellen (x 64)

III. Untersuchungen über die Hormonaktivität der Ovarialtumoren

a) Zeichen einer gesteigerten Hormonaktivität bei Ovarialtumoren (ausgenommen Granulosa- und Thekazelltumoren)

Bei 12 (22 %) der 54 Frauen mit Ovarialtumoren ohne enzymaktive Stromazellen hatten wir die Möglichkeit, das Endometrium histologisch zu untersuchen. In keinem Fall fand sich eine glandulär-cystische Hyperplasie. Stets handelte es sich bei den meist älteren Frauen um ein ruhendes oder atrophisches Endometrium.

Von den 26 Ovarialtumoren mit enzymaktiven Stromazellen lag uns in 6 Fällen (23 %) ein histologischer Befund über das Endometrium vor. Dreimal war das Endometrium atrophisch, dreimal bestand aber eine glandulär-cystische Hyperplasie. Die 3 Patientinnen mit glandulär-cystischer Hyperplasie waren 62, 67 und 69 Jahre alt und schon mehr als 10 Jahre in der Menopause. Über gleichzeitige Blutungen berichtete nur eine von ihnen.

Blutungen bei Frauen, die schon mehr als 1 Jahr in der Menopause sind, können ein Hinweis auf eine gesteigerte Hormonproduktion im Ovarium sein. Azyklische Blutungen bei jüngeren Frauen oder in der Praemenopause, sowie Blutungen im 1. Jahr der Postmenopause dürfen in diesem Zusammenhang keine Beachtung finden, da sie zumeist funktionell bedingt sind.

Bei 54 Frauen mit Ovarialtumoren ohne enzymaktive Stromazellen berichten eine 53- und eine 54-jährige Patientin (4 %) über Blutungen in der Menopause. Von 26 Frauen mit enzymaktiven Stromazellen hatten 2 stärkere Blutungen, 2 andere Schmierblutungen. Alle 4 Frauen waren über 60 Jahre alt und schon 10 und mehr Jahre in der Menopause.

Zusammenfassend ergibt sich, daß von 26 Patientinnen mit enzymaktiven Stromazellen 7 (27 %) Blutungen nach der Menopause oder eine glandulär-cystische Hyperplasie in höherem Alter hatten, wogegen von den 54 Frauen mit Ovarialtumoren

ohne enzymaktive Stromazellen lediglich 2 (4 %) über Blutungen nach der Menopause berichteten.

b) Zeichen einer gesteigerten Hormonaktivität bei Granulosa- und Thekazelltumoren

Auch an der Hormonbildung der Granulosazelltumoren scheinen die Thekaanteile und damit die enzymaktiven Stromazellen entscheidenden Anteil zu haben. Bei den 2 Granulosazelltumoren ohne diese Zellen waren keine azyklischen Blutungen aufgetreten. Das Endometrium konnte allerdings nicht untersucht werden (vgl. Tab. 9).

Bei den3Granulosazelltumoren mit enzymaktiven Stromazellen war das Endometrium stets glandulär-cystisch umgewandelt. Darüber hinaus fanden wir bei einer Patientin azyklische Blutungen und bei den beiden anderen Blutungen nach der Menopause.

Die 57- und die 72-jährige Patientin mit Thekazelltumoren berichteten ebenfalls über Blutungen nach der Menopause. Doch nur das Endometrium der jüngeren Patientin wies die Zeichen einer hormonalen Stimulierung auf. Enzymaktive Stromazellen beobachten wir in beiden Fällen im Tumorgewebe selbst.

c) Maligne Veränderungen am Endometrium

Bei 7 Ovarialtumoren (5 endometrioide Carcinome, 1 unklassifizierbares Carcinom und 1 Fibrom) ist gleichzeitig ein Carcinom des Corpus uteri vorhanden. Nur in 2 (endometrioiden) Carcinomen sind aber enzymaktive Stromazellen nachweisbar. Diese beiden 56- und 53-jährigen Patientinnen waren schon 3 bzw. 9 Jahre in der Menopause.

Von den 5 anderen Frauen hatten 3 noch einen regelmäßigen Zyklus. Die beiden anderen waren schon über 3 Jahre in der Menopause.

Tabelle 9: Vorkommen enzymaktiver Stromazellen und Zeichen einer Hormonaktivität bei Granulosa-theka-zelltumoren

	Alter	Endometrium	Azyklische Blutungen	Wachstumsform
Granulosazelltumoren	56	hyperplastisch	+	expansiv
mit	73	hyperplastisch	+	expansiv
EASC	48	hyperplastisch	+	expansiv
Metastase eines Granulosazelltumors im Netz	63	?	-	invasiv
Granulosazelltumoren	62	?	-	invasiv
ohne	45	?	-	invasiv
E A S C				
Thecazelltumoren	57	hyperplastisch	+	
	72	?	+	

E. Diskussion

Die enzymaktiven Stromazellen unterscheiden sich in HE gefärbten Serienschnitten nie so deutlich von ihrer Umgebung, daß man sie auf Grund ihrer Zell- oder Kernform sicher erkennen könnte. In der überwiegenden Mehrzahl sind es thekaähnliche Stromazellen, in denen wir eine Enzymaktivität finden. Gelegentlich beobachten wir auch in spindelförmigen Fibrozyten eine positive Reaktion. Kommen luteinisierte Stromazellen vor, so sind sie nur zum Teil enzymaktiv. Sie enthalten jedoch teilweise Cholesterin, das den enzymaktiven Stromazellen fehlt.

Wie den Theka- und Granulosazellen, den vermutlich ebenfalls hormonaktiven Hilus- und interstitiellen Zellen des Ovars, eignet auch den enzymaktiven Stromazellen eine sehr starke Reaktion der NADPH-abhängigen Isozitrat-, Glucose-6-Phosphat- und 6-Phosphoglukonat-Dehydrogenase, sowie der NADPH-Cytochrom-c-Reduktase selbst. Genügend frei verfügbares NADPH ist Voraussetzung für die Produktion der Steroidhormone (Karlson 1964).

Die positiven Reaktionen der NADH-abhängigen Laktat-Dehydrogenase und der NADH-Cytochrom-c-Reduktase fügen sich zwanglos in dieses Bild ein. Lediglich die Aktivität der Malat-Dehydrogenase scheint nach König (1962) und Kern-Bontke (1964) ungewöhnlich zu sein für Zellen, die Geschlechtshormone bilden.

Das Vorkommen der alkalischen Phosphatase, der Leucinaminopeptidase und die nur schwache oder negative Reaktion der -Glycerophosphat-Dehydrogenase weisen auf eine enge Verwandtschaft zwischen der Theca interna folliculi und den enzymaktiven Stromazellen hin, die durch die morphologische Ähnlichkeit beider Zelltypen noch unterstrichen wird.

Eine in der Regel positive Sudanschwarzfärbung und das nur gelegentliche Vorkommen von Cholesterin in fast ausschließlich cytoplasmareichen, luteinisierten Stromazellen entsprechen unseren Erwartungen. Sudanophile Substanzen kommen im

Corpus luteum in allen Phasen vor, wenn auch in unterschiedlichem Ausmaß. Das Auftreten von Cholesterin kennzeichnet dagegen die Involution. So liegt die Vermutung nahe, daß es sich bei den cholesterinpositiven Zellen um inaktiv gewordene ehemalige enzymaktive Stromazellen handelt. In Übereinstimmung damit steht die Tatsache, daß luteinisierte Stromazellen nur bei einem Teil der Tumoren gefunden werden.

Andererseits müssen wir uns fragen, wie die negative Reaktion beim Nachweis der Aldehyd- und Carbonylgruppen zu verstehen ist, da das Corpus luteum im Vascularisations- und Blütestadium positiv reagiert. Als Ursache kommt eine zu geringe Konzentration der entsprechenden Substanzen auf Grund einer zu kurzen Verweildauer in den enzymaktiven Stromazellen in Betracht. Weiterhin ist zu berücksichtigen, daß das Corpus luteum im wesentlichen Progesteron bildet, Zeichen einer Progesteronbildung aber nur in seltenen Ausnahmen bei Ovarialtumoren zu finden sind.

Phospholipoide lassen sich mit Sicherheit nur in einem Thekazelltumor nachweisen.

Kohlenhydrate beobachten wir in den enzymaktiven Stromazellen nicht. Sie scheinen in den hormonaktiven Geweben nur eine untergeordnete Rolle zu spielen. Auch im Corpus luteum treten sie nur in geringen Mengen auf.

Wir können also zusammenfassend feststellen, daß die enzymaktiven Stromazellen sich in ihrem Enzym- und Stoffgehalt fast nicht von den Thekazellen und dem Corpus luteum unterscheiden. Dies läßt es wahrscheinlich erscheinen, daß auch hinsichtlich Entstehung und Funktion Gemeinsamkeiten bestehen. Die verschiedenen Zellformen und das Auftreten von Cholesterin nur in luteinisierten Stromazellen legen - in Analogie zur Entwicklung des Follikels und des Corpus luteum - die Vermutung nahe, daß die thekaähnlichen enzymaktiven Stromazellen unter bestimmten Bedingungen luteinisiert werden und anschließend der Involution verfallen. Die enzymaktiven Fibrozyten müßte man entsprechend als Vorstufen der thekaähnlichen Zellen betrachten.

Da die Entwicklung der Theca folliculi und des Corpus luteum sich bekanntlich unter direkter Einwirkung der Hypophyse auf das Ovar vollzieht, läßt die enge Beziehung der enzymaktiven Stromazellen zu diesen Geweben daran denken, daß auch sie durch eine erhöhte Ausschüttung von Gonadotropinen hervorgerufen sein könnten. Denkbar wäre zunächst, daß die Zerstörung des funktionsfähigen Ovarialgewebes über einen Rückkopplungsmechanismus eine derartige Gonadotropinausschüttung bewirkt. Dann aber müßte man neben einem erhöhten Gonadotropinspiegel im gesunden kontralateralen Ovar ebenfalls thekaähnliche bzw. enzymaktive Stromazellen nachweisen können. Ober u.a. (1962) und Scott u.a. (1967) berichten jedoch über völlig normale FSH-Spiegel. Entsprechend konnte auch Ober (1960) keine Stimulierung des kontralateralen Ovars beobachten. Einer solchen Annahme würde auch widersprechen, daß die enzymaktiven Stromazellen nicht diffus im Stroma zerstreut liegen, sondern gewöhnlich in Zellhaufen angeordnet in unmittelbarer Nähe der Tumorgewebsinseln auftreten.

Für eine solche Hypothese spricht jedoch eine gewisse Altersabhängigkeit des Vorkommens der enzymaktiven Stromazellen. So finden wir diese Zellen bei Frauen über 50 Jahren besonders häufig. Diese Erfahrung könnte damit erklärt werden, daß seröse Kystome, die nur selten enzymaktive Stromazellen enthalten, in jüngeren Altersgruppen häufiger sind als in älteren (Hertig & Gore1961). Andererseits liegt es aber nahe, das gehäufte Auftreten mit der postmenopausalen Hypergonadotropie (Ufer 1966) in Zusammenhang zu bringen. Gestützt wird diese Vorstellung auch durch die Untersuchungen von Scully & Cohen (1964), die enzymaktive Stromazellen in gesunden Ovarien fast ausschließlich bei älteren Frauen nach der Menopause beobachteten.

Enzymaktive Stromazellen finden sich ausnahmslos in den Gewebsschnitten aus dem Ovar. In Gewebsproben von Metastasen primärer Ovarialtumoren kommen sie dagegen nicht vor. Auf Grund dieses Befundes ist wohl die Annahme gerechtfertigt, daß es sich bei der Bildung derartiger Zellen um eine spezifische Leistung des Ovarialstromas handelt, zu der andere Gewebe nicht in der Lage sind.

Das klinische Verhalten der Ovarialtumoren scheint einen gewissen Einfluß auf das Vorkommen der enzymaktiven Stromazellen zu haben. Wir beobachten sie nämlich bei malignen Tumoren in 32 %, bei benignen Tumoren jedoch in 47 % der Fälle.

Eine sichere Beziehung besteht zum histologischen Typ des Tumors:

Bei Granulosa-theka-zelltumoren, die in größeren, soliden und gut abgegrenzten Partien wachsen, entdecken wir enzymaktive Stromazellen, nicht aber in denen, die feingliedrig in schmalen Gewebssprossen das Ovarialstroma durchdringen. Die Thekaanteile haben mit den Thekazelltumoren gemeinsam, daß in ihnen eine Enzymaktivität nur in umschriebenen Zellgruppen auftritt.

Bei den sog. nicht hormonaktiven Ovarialtumoren ist das Vorkommen der Zellen ebenfalls an bestimmte Wachstumsstrukturen gebunden.

Die mucinösen Kystome und die endometrioiden Carcinome enthalten in der Mehrzahl der Fälle (83 % bzw. 53 %) enzymaktive Stromazellen. Charakteristisch für die mucinösen Kystome ist ihr meist drüsiger oder gar cystischer Aufbau. Endometrioide Carcinome wachsen in größeren gut geformten Läppchen mit Drüsenlumina. Bei beiden Tumortypen entwickeln sich die neugebildeten Drüsen und Cysten ins Stroma hinein und vergrößern sich. Sie grenzen sich fast stets deutlich gegen das umgebende Stroma ab. Die Prognose beider Tumortypen ist relativ gut, da sie überwiegend in frühen Ausdehnungsstadien zur Behandlung gelangen (Kottmeier 1965, Pfleiderer & Kiyian 1967).

Die serösen Kystome unterscheiden sich von den erwähnten Tumoren durch ihr ausgesprochen papilläres Wachstum. Sie können als Oberflächenpapillome wachsen oder sich in große Cysten hinein entwickeln. Besonders häufig finden wir bei ihnen unreife, wenig ausdifferenzierte Carcinome. Ihre Prognose ist relativ ungünstig, da sie in der Regel erst in fortgeschrittenen Ausdehnungsstadien erkannt werden. Enzymaktive Stromazellen beobachten wir bei ihnen nur selten (14 %).

Bei unklassifizierbaren Carcinomen des Keimepithels herrschen solide und stark infiltrative Strukturen vor. Lediglich ein in größeren, weitgehend soliden Partien wachsendes Carcinom, das sich gut gegen das umgebende Bindegewebe abgrenzt, weist enzymaktive Stromazellen auf (= 11 %).

Metastasen anderer Carcinome im Ovar verhalten sich wie die primären Ovarialtumoren. Enzymaktive Stromazellen kommen bevorzugt vor, wenn das Carcinom Drüsen oder Alveolen bildet, viel seltener jedoch, wenn sich das Carcinom in feinen Strängen oder einzelnen Zellen zwischen das Stroma des Ovars schiebt.

Enzymaktive Stromazellen treten also bevorzugt dann auf, wenn innerhalb des Ovariums ein Tumor expansiv, das Stroma verdrängend, wächst. Sie fehlen meist dagegen in Tumoren, die entweder an der Oberfläche des Ovars bleiben, ein eigenes lockeres Bindegewebe bilden oder sich ohne große Verdrängung des umliegenden Gewebes stark infiltrierend in das Stroma schieben.

Woodruff u.a. (1963) kamen zu ähnlichen Folgerungen: "... wenn die Matrix (des Tumors) ovarielles Mesenchym ist, kann eine mechanische Stimulierung eines solch potenten Gewebes durch das proliferierende Epithel (des Tumors) in einer Hormonproduktion resultieren, einer Reaktion ähnlich der der Theka interna auf die Proliferation der Granulosazellschicht des reifenden Follikels".

Aus den Untersuchungen von Pfleiderer (1968) am Carcinom des Corpus uteri geht hervor, daß bedeutsame Wechselbeziehungen zwischen Tumorepithel und umgebendem Bindegewebe bestehen. Differenzierung und Wachstumstyp haben für die Verteilung der Enzyme und die Intensität der Reaktionen im Tumorepithel eine große Bedeutung.

Nach Schmidt-Matthiesen (1958 und 1959) ist die Art der Tumorinvasion für die Reaktion des Stromas entscheidend. Am Kollumcarcinom stellte er fest, daß bei einer stummen Invasion das Bindegewebe keine Reaktion aufweist. Bei destruktivem Wachstum des Tumors geht es unter Verlust seiner Enzymaktivität in Lyse über. Auf den Proliferationsreiz

eines expansiven, verdrängend wachsenden Tumors antwortet es mit einer "reproduktiven Bindegewebsneubildung".

Über die Wechselwirkungen zwischen Ovarialtumoren und dem Ovarialstroma sind uns keine Untersuchungen bekannt. Doch liegt der Gedanke nahe, auch hier derartige Wechselbeziehungen anzunehmen und das Entstehen der enzymaktiven Stromazellen als eine Reaktion des Ovarialstromas auf das Tumorwachstum, vielleicht erleichtert durch einen hohen Gonadotropinspiegel, zu interpretieren.

Bei den Granulosa-theka-zelltumoren finden wir Zeichen einer Hormonaktivität nur, wenn sie enzymaktive Stromazellen oder Thekaanteile enthalten. Das stützt die Ansicht von McKay & Robinson (1949), wonach für die Hormonbildung in Granulosa-theka-zelltumoren nicht die Granulosa-, sondern allein die Thekaanteile verantwortlich sind. Thekazelltumoren sind entsprechend ihrer Definition hormonaktiv (Jeffcoate 1957). Sie unterscheiden sich dadurch von Fibromen und Corticomen (Beck & Latour 1962). Der Nachweis enzymaktiver Zellen schützt vor der Verwechslung mit Fibromen.

Bei den 78 sog. nicht hormonaktiven Ovarialtumoren finden wir in 9 (14 %) Fällen einen Hinweis auf eine gesteigerte Hormonproduktion. Dabei ist auffällig, daß eine Stimulierung des Endometriums oder eine Blutung nach der Menopause bei den 26 Tumoren mit enzymaktiven Stromazellen in 7 (27 %) Fällen festzustellen ist. Ohne enzymaktive Stromazellen haben wir nie am Endometrium sichere Zeichen einer Hormonaktivität gefunden, wenn man von 2 Fällen (≙ 4 %) einer Blutung nach der Menopause absieht.

Als Ort der Hormonbildung kommen grundsätzlich das Tumorgewebe, das umgebende Bindegewebe oder die Nebennierenrinde in Betracht. Gegen eine Hormonbildung im Tumorepithel spricht, daß die Zeichen einer Hormonaktivität nach der Exstirpation der Ovarialtumoren zurückgehen und der Steroidhormonstoffwechsel sich normalisiert, auch wenn Metastasen in anderen Organen oder die Primärtumoren der Ovarialmetastasen nicht entfernt werden konnten (Turunen 1955, Woodruff u.a. 1963, Plotz u.a. 1966).

Wagner (1950) entwickelte die Vorstellung, daß die Destruktion des aktiven Ovarialstromas eine ungehemmte Aktivität der Nebenniere erlaube. Dagegen spricht, daß sonst bei einer Verminderung des funktionsfähigen Ovarialstromas die Hormonbildung in der Nebennierenrinde eher vermindert ist (Novak 1965) und daß nach der Entfernung der Ovarialtumoren die zuvor erhöhte Östrogen bzw. 17-Ketosteroidhormonausscheidung absinkt.

Damit verdichtet sich die Annahme, daß die Hormone in den enzymaktiven Zellen des Ovarialstromas gebildet werden. Ihr Enzym- und Stoffgehalt sind weitere wichtige Indizien. Alle Befunde einschließlich der Morphologie dieser Zellen sprechen für eine enge Beziehung zur Theca interna folliculi.

Erst in neuester Zeit gelang es Ryan & Petro (1966), die Theka und die Granulosafolliculi voneinander zu trennen und deren Hormonstoffwechsel zu untersuchen. Dabei stellte sich heraus, daß zwischen diesen beiden Zellschichten kein qualitativer, jedoch ein sehr deutlicher quantitativer Unterschied besteht. Während die Granulosa hauptsächlich Progesteron bildet, verlegt sich die Theca folliculi besonders auf die Produktion von Androstendion und Östradiol. Über den Hormonstoffwechsel der Theka- und der Granulosaluteinzellschicht besteht im einzelnen noch keine Klarheit.

Die Tatsache, daß bei Ovarialtumoren mit enzymaktiven Stromazellen häufig eine Östrogen-, gelegentlich eine Androgen- und nur sehr selten eine Progesteronproduktion einhergeht, könnte damit auf Grund der engen Beziehung der Zellen zur Theka interna interpretiert werden.

Leider ist es bis heute noch nicht möglich, die einzelnen Steroidhormone zuverlässig an Gewebsschnitten nachzuweisen und deren Bildung exakt in den hormonaktiven Zellen des Ovars darzustellen.

Mit Hilfe der von Wattenberg (1958) inaugurierten und von Levy u.a. (1959) und Fuhrmann (1961) weiter entwickelten Technik zur Darstellung der 3B-ol-Steroid-Dehydrogenase hoffte man,weiteres Licht in die Zusammenhänge der Hormon-

bildung innerhalb der Zelle zu bringen. Die 3ß-ol-Steroid-Dehydrogenase vermag Pregnenolon zu Progesteron und Dehydroepiandrosteron zu Androstendion umzuwandeln. Es wird vermutet, daß diesem Enzym im Hormonstoffwechsel eine zentrale Bedeutung zukommt (vgl. Abb. 4).

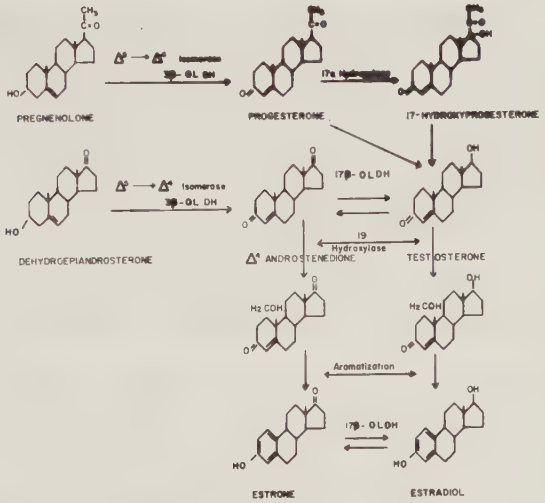


Abb. 4: Stoffwechsel der Geschlechtshormone nach Smith & Ryan (1962).

Nach Mason & Samuels (1961) und Smith & Ryan (1961 und 1962) gibt es zwei Stoffwechselwege für die Synthese der Geschlechtshormone:

Einmal führt der Abbau des Cholesterins zur Bildung des Pregnenolons, das als eigentliche Ausgangssubstanz für die Produktion des Progesterons, des Testosterons und endlich - in dieser Reihenfolge- des Östradiols betrachtet werden muß (vgl. Karlson 1964).

Der zweite Weg führt vom Dehydroepiandrosteron-Sulfat als Ausgangssubstanz über das Zwischenprodukt 4-Androsten-3, 17-dion zur Synthese von Testosteron und Östradiol.

Unumgängliche Voraussetzung für beide Stoffwechselwege ist eine Aktivität der 3ß-ol-Steroid-Dehydrogenase. Man müßte also auf Grund dieser Vorstellungen in all den Geweben eine positive Reaktion finden, denen eine Produktion von Geschlechtshormonen zugeschrieben wird (Abb. 4).

Im Gegensatz dazu konnten Goldberg u.a. (1963) die 3ß-ol-Steroid-Dehydrogenase fast ausschließlich im Gewebe Progesteron bildender, nicht aber östrogenaktiver Tumoren zur Darstellung bringen. Lediglich Stromazellen eines virilisierenden Arrhenoblastoms, die morphologisch nicht von Leydig'schen Zwischenzellen mit Reinkekristallen zu unterscheiden waren, reagierten positiv.

Wir müssen daraus schließen, daß zwar Progesteron und vielleicht auch Androgene, nicht aber Östrogene unter Mitwirkung der 3ß-ol-Steroid-Dehydrogenase gebildet werden.

Auch unsere eigenen Untersuchungen lassen sich auf dem Boden dieser Vorstellungen nicht erklären. Alle klinischen Befunde weisen darauf hin, daß die enzymaktiven Stromazellen vornehmlich Östrogene bilden. Trotzdem gelang es uns nur in jedem vierten Fall, die 3ß-ol-Steroid-Dehydrogenase in relativ geringer Intensität nachzuweisen.

Diese Diskrepanz führte zu der Annahme, daß die endokrin aktive Zelle zur Bildung von Östrogenen einen Weg beschreiten müsse, bei dem die Mitwirkung dieses Enzyms nicht erforderlich ist. Howard (1962) hatte aus ähnlichen Gründen ein verändertes neues Schema für die Biosynthese der Östrogene vorgelegt, das den enzymhistochemischen Befunden besser gerecht wird (Abb. 5).

Dehydroepiandrosteron-Sulfat, das nach Burstein & Dorfman (1962) unmittelbar vom Cholesterin abstammt, wäre wiederum Substrat.

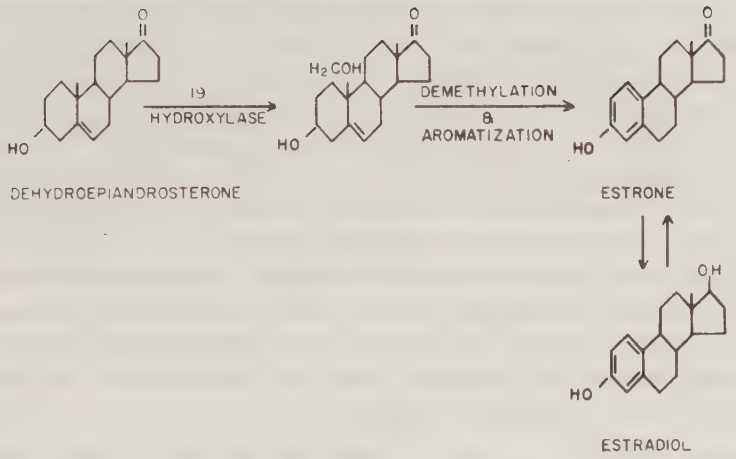


Abb. 5: Östrogensynthese nach Howard (1962).

Eine Oxydation des Steranringes in Stellung 17 und 19 führte dann unter Umgehung der 3ß-ol-Steroid-Dehydrogenase zur Bildung von Östron, das durch Reduktion an C-Atom 17 in Östradiol umgewandelt würde.

Das Schema nach Howard kann noch nicht als gesichert gelten, doch mehren sich im Schrifttum Hinweise, die in dieselbe Richtung weisen. So haben erst in neuester Zeit Plotz u.a. (1967) beobachtet, daß die Substrate Cholesterin, Pregnenolon, 17-α-Hydroxy-Progesteron und Dehydroepiandrosteron von den Ovarien gesunder Frauen in der Menopause, auch wenn sie luteiniserte Stromazellen enthalten, nur zu Progesteron oder Androgenen, nicht aber zu Östrogenen umgesetzt werden. Lediglich 2 von 22 Ovarien waren in der Lage, Testosteron wenigstens in geringem Umfang in Östradiol umzuwandeln. Das in diesem Zusammenhang interessante Dehydroepiandrosteron wurde von den Autoren nicht getestet. Nach Beaulieu (1962) ist es aber im menschlichen Plasma in genügender Menge vor-

handen, so daß es als Vorstufe des Östradiols durchaus denkbar wäre.

Damit sprechen eine ganze Reihe von Befunden dafür, daß die Synthese, zumindest der Östrogene, nicht den herkömmlichen Vorstellungen über die Bildung der Geschlechtshormone folgt. Doch darf dabei nicht übersehen werden, daß bei den vorangehenden Überlegungen stets vorausgesetzt wurde, daß ein und dieselbe Zelle die gesamte Biosynthese der Geschlechtshormone von Anfang an zu vollziehen vermag. Die bis heute bekannten Untersuchungen befassen sich mit diesem Problem nicht eingehend. Theoretisch wäre es nämlich denkbar, daß die schwache oder häufig sogar negative Reaktion der 3ß-ol-Steroid-Dehydrogenase in den enzymaktiven Stromazellen darauf beruht, daß diese Zellen nur in Stellung 3 bereits dehydrierte Vorstufen wie etwa Progesteron zu Androgenen oder Östrogenen metabolisieren.

An dieser Stelle ist auf die Versuche von Falck (1959) hinzuweisen, der Ovarialgewebe in die vordere Augenkammer von Ratten verpflanzte. Dabei machte er die Beobachtung, daß Thekazellen oder interstitielle Zellen allein nicht in der Lage sind, am Vaginalepithel eine Verhornung hervorzurufen. Transplantierte er aber gleichzeitig Granulosazellen oder Zellen des Corpus luteum, so konnte er regelmäßig einen Östrogeneffekt nachweisen.

Wir müssen deshalb vermuten, daß die hormonaktiven Zellen des Ovars in der Biosynthese der Geschlechtshormone nicht "autark" sind, sondern in einer Art Gemeinschaftsarbeit zusammenwirken.

Zuletzt stellt sich uns noch die Frage, welche Gründe die enzymaktiven Stromazellen veranlassen, in einem Fall Androgene, in einem anderen Östrogene zu bilden.

Hamwi u.a. (1963) konnten einen Brennertumor mit enzymaktiven Stromazellen durch Zusatz von HCG in vitro zur Androgensynthese anregen. Es mag deshalb nicht ganz zufällig sein, daß gerade in der Schwangerschaft bei mehreren pri-

mären und sekundären Ovarialtumoren Zeichen einer Virilisierung beschrieben werden (Esau 1933, Morris & Scully 1958, Hamwi u.a. 1963, Meiling u.a. 1963, Scully 1963, Fox & Stamm 1965 sowie Spandoni u.a. 1965).

Da keine weiteren Untersuchungen zu diesem Problem vorliegen, wäre es wünschenswert, bei einer größeren Anzahl virilisierender Ovarialtumoren die hormonalen Verhältnisse und den Hormonstoffwechsel des Tumorgewebes in vitro mit den histochemischen und enzymhistochemischen Befunden in Beziehung zu setzen.

F. Zusammenfassung.

Enzymhistochemische, pathologisch-anatomische und klinische Untersuchungen an 114 Ovarialtumoren erlauben es, über das Vorkommen, die Funktion und die Häufigkeit von enzymaktiven Zellen im Stroma dieser Tumoren folgende Aussagen zu machen:

1. Im Bindegewebe von 85 Ovarialtumoren finden sich enzymaktive Stromazellen in 31 (37 %) Fällen. In 29 Metastasen primärer Ovarialtumoren fehlen sie dagegen.

2. Enzymaktive Stromazellen treten in Ovarialtumoren von Frauen unter 50 Jahren in 18 %, über 50 Jahren in 43 % der Fälle auf.

3. Zytostatika haben keinen erkennbaren Einfluß auf ihr Vorkommen. Bei vorangehender Röntgen- oder Radiumbestrahlung fehlen sie.

4. Bei Granulosa-theka-zelltumoren (60 %), mucinösen Kystomen (83 %), endometrioiden Carcinomen (53 %) und Metastasen (33 %) beobachten wir häufig, bei serösen Kystomen (14 %) und unklassifizierbaren Tumoren des Keimepithels (11 %) sehr selten enzymaktive Stromazellen. In beiden Thekazelltumoren sind nur umschriebene Zellgruppen enzymaktiv.

5. Von entscheidender Bedeutung ist der Wachstumstyp des Tumors. Verdrängend wachsende Tumoren enthalten fast stets, cystisch-papilläre oder feinfliedrig infiltrierende Tumoren nur selten derartige Zellen.

6. Nur Granulosa-theka-zelltumoren mit enzymaktiven Stromazellen sind hormonaktiv. Die sog. nicht hormonaktiven Ovarialtumoren verhalten sich in der Regel ebenso.

7. Histochemisch und morphologisch entsprechen die enzymaktiven Stromazellen am ehesten den Zellen der Theca interna folliculi. Die Isozitrat-, die Glucose-6-phosphat-, die 6-Phospho-Gluconat-, die Laktat- und die Malat-Dehydrogenase, sowie die NADH- und die NADPH-

Cytochrom-c-Reduktase reagieren positiv. Ebenso die alkalische Phosphatase und weitgehend auch die Leucinaminopeptidase. Sudanophile Substanzen sind in diesen Zellen meist (76 %) nachweisbar. Cholesterin dagegen tritt fast ausschließlich in luteinisierten Stromazellen auf.

8. Diskutiert wird der Einfluß des Tumorwachstums und der Hypergonadotropie bei Frauen in der Praemenopause und nach der Menopause auf das Vorkommen enzymaktiver Stromazellen. Die enzymhistochemischen Befunde, der Stoffgehalt und die Morphologie dieser Zellen lassen eine enge Beziehung zur Theca folliculi erkennen und vermögen so, eine Erklärung für die Zeichen einer gesteigerten Hormonaktivität bei Ovarialtumoren mit enzymaktiven Stromazellen zu geben. Schwierig ist die Interpretation der oft schwachen, nicht regelmäßig positiven Reaktion der 3ß-ol-Steroid-Dehydrogenase. Es wird vermutet, daß zur Bildung von Östrogenen dieses Enzym nicht unbedingt nötig ist.

G. Literaturverzeichnis

Abé, T., Shimizu, N. — Histochemical method for demonstration aldolase. Histochemie 4, 209-212, 1964.

Ashbell, R., Seligman, A.M., — New reagent for histochemical demonstration of active carbonyl groups. New method for staining ketonic steroids. Endocrinology 44, 565-585, 1949.

Baker, J.R., — The histochemical recognition of lipine. Quart.J.micr.Sci. 87, 441-470, 1946.

Baker, J.R., — Further remarks on the histochemical recognition of lipine. Quart.J.micr.Sci. 88, 463-465, 1947.

Baldwin, E., — Dynamic aspects of biochemistry, 2.nd.ed. Cambridge, Univ.Press. London. 1952.

Beck, R.P., Latour, J.P.A., — Atypical fibromas and thecomas of the ovary. Obstet. Gynec. N.Y. 19, 228-232, 1962.

Behrens, H., — Hormonuntersuchungen bei Frauen mit Ovarialtumoren in der Menopause. Arch.Gynäk. 193, 270-276, 1959.

Besch, P.K., Byron, R.C., Barry, R.D., Teteris,. N.J., Hamwi, G.J., Vorys, N., Ullary, J.C., — Testosteron synthesis by a Brennertumor. AmJ.Obstet.Gynec. 86, 1021-1026, 1963.

Bettinger, H.F., Jakobs, H., — A contribution to the problem of masculinisation. Med.J.Aust. 1, 10-13, 1946.

Biggart, J.H., Macafee, C.H.G., — Tumours of the ovarian mesenchyme. J.Obstet.Gynec.Brit.Emp. 62, 829-837, 1955.

Brewer, J.I., — Studies of the human corpus luteum. Evidence for the early onset of regression of the corpus luteum of menstruation. AmJ.Obstet.Gynec. 44, 1048-1052, 1942.

Bruno, M.S., Ober, W.B., — Clinicopathologic conference. New York J.Med. 59, 4001-4007, 1959.

Burstein, S., Dorfman, R.I., — Biosynthesis of C-19-steroids from 4-C^{14} cholesterol and 7-^{3}H-Pregenenolone in vivo: Consideration of news pathways. Acta endocr. 40, 188-202, 1962.

Burstone, M.S., Weisburger, E.K., Development of new histochemical substrates and diazonium salts for the demonstration of aminopeptidase. J.Histochem.Cytochem. 9, 349-355, 1961.

Corriden, T.F., Ovarian neoplasms in a hermaphrodite. New Engl.J.Med. 240, 247-248, 1949.

Deane, H.W., Presentation of a case. New Engl.J.Med. 244, 728-732, 1951.

Deane, H.W., Lobel, B.L., Romney, S.L., Enzymic histochemistry of normal human ovaries of the menstrual cycle, pregnancy and early puerperium. Am.J.Obstet.Gynec. 83, 281-284, 1962.

Diezel, P.B., Die Stoffwechselstörungen der Sphingolipoide. Monogr. aus dem Ges.-Geb. der Neurol. u.Psych. Heft 80, Heidelberg, Springer 1957.

Eddie, D.A.S., Hormonal activity with ovarian tumours. J.Obstet.Gynæc.Brit.Owlth. 74, 283-285, 1967.

Eddie, D.A.S., Ovarian stromal reponse to neoplasia and the relationship with hormone production. J.Obstet.Gynaec.Brit.Owlth. 74, 286-291, 1967.

Esau, P., Krukenbergtumoren in der Schwangerschaft. Zbl.Gynäk. 57, 1167-1169, 1933.

Falck, B., Site of production of estrogen in rat ovary as studied in microtransplants. Acta.Physiol.Scand. 47, Suppl. 163, 1959.

Farrer, H.K. jr., Elesh, R., Libretti, J., Brennertumours and oestrogenproduction. Obstet.Gynec.Survey. 15, 1-17, 1960.

Fathalla, M.F., The role of the ovarian stroma in hormone production by ovarian tumours. J.Obstet.Gynaec.Brit.Owlth. 75, 78-83, 1968.

Fienberg, R., Cohen, R.B., A comparative histochemical study of the ovarian stromal lipidband, stromal theca cell and normal ovarian follicular appa ratus. Am.J.Obstet.Gynec. 92, 958-969, 1965.

Foraker, A.G., Celli, P.A., Denham, S.W., Fox, H., Dehydrogenase activity in the ovary. Obstet.Gynec.N.Y. 2, 407-413, 1953.

Estrogenic activity of the serous cystadenoma of the ovary. Cancer, Philad. 18, 1041-1048, 1965.

Fox, L.P., Stamm, W.J., Krukenbergtumor complicating pregnancy. (Report of a case with androgenic activity) Am.J.Obstet.Gynec. 92, 702-710, 1965.

Fränkl, O., Zur Pathologie und Klinik des Fibroma ovarii adenocysticum. Arch.Gynäk. 131, 325-338, 1927.

Fuhrmann, K., Kolorimetrische Bestimmung und histochemischer Nachweis der Aminopeptidase an Geweben weiblicher Genitalorgane. Zbl.Gynäk. 81, 1105-1125, 1959.

Fuhrmann, K., Über den histochemischen Nachweis der 3ß-ol-Steroid-Dehydrogenase-Aktivität in Geweben endokriner Organe. Zbl. Gynäk. 15, 565-571, 1961.

Greenblatt, R.B., Greenhill, J.P., Brown, W.R., Variations of lipoid content in certain ovarian tumors. Am.J.Obstet.Gynec. 37, 929-939, 1939.

Goebel, A., Puchtler, H., Untersuchungen zur Methodik der Darstellung der Succinat-Dehydrogenase im histologischen Schnitt. Virchows Arch.pathol.Anat. 326, 312-331, 1955.

Goldberg, B., Jones, G.E.S., Turner, D.A. Steroid-3-ß-ol dehydrogenase activity in human tissues. Am.J.Obstet.Gynec. 86, 349.359, 1963.

Goldberg, G., Jones, G.E.S., Woodruff, J.D., A histochemical study of steroid 3ß-ol dehydrogenase activity in some steroid producing tumors. AmJ.Obstet.Gynec. 86, 1003-1014, 1963.

Gomori, G., An improved histochemical technic for acid phosphatase. Stain.Technol. 25, 81-85, 1950.

Hamwi, G.J., Byron, R.C., Besch, P.K., Vorys, N., Teteris, N.J., Ullary, J., Testosteron synthesis in a Brennertumor Am.J.Obstet.Gynec. 86, 1015-1020, 1963.

Hess, R., Scarpelli, D.G., Pearse, A.G.E., The cytochemical localisation of oxidative enzymes. II. Pyridine nucleotide-einhed dehydrogenase. J.Biophys.Biochem.Cytol. 4, 753-760, 1958.

Howard, E., A histochemical study of steroid 3ß-ol-dehydrogenase activity in some steroid producing tumors. Am.J.Obstet.Gynec. 86, 1003-1014, 1963.

Hughesdon, P.E., Thecal and allied reactions in epithelial ovarian tumours. J.Obstet.Gynaec.Brit.Emp. 65, 702-709, 1958.

Ikonen, M., Niemi, M., Pesonen, S., Timonen, S., Histochemical localization of four dehydrogenase systems in human ovary during the menstrual cycle. Acta endocr. 38, 293-302, 1961.

Ingelman-Sundberg, A., A histochemical reaction for the detection of oestriol in tissue. Acta endocr. 28, 47-48, 1958.

Jakobovits. M.D., Hormone production by miscellaneous ovarian tumors. Am.J.Obstet.Gynec. 85, 90-95, 1963.

Jeffcoate, T.N.A., Principles of gynaecology. London, Butterworth, 1957.

Jones, G.E.S., Goldberg, B., Woodruff, J.D., Histochemistry as a guide for interpretation of cell function. Am.J.Obstet.Gynec. 100, 76-83, 1968.

Karlson, P., Kurzes Lehrbuch der Biochemie. 5. Aufl. 1966, G. Thieme, Stuttgart.

Kellog, D.A., Glenner, G.G., Histochemical localization of human, term placental 17-ß-oestradiol dehydrogenases: Implication for the trans-hydrogenase reaction. Nature 187, 763-764, 1960.

Kern-Bontke, E., Histochemisch nachweisbare Fermentaktivität in den Theca-und Granulosaluteinzellen des Corpus luteum. Histochemie 4, 56-64, 1964.

Klüver, H., Barrera, E., A method for the combined staining of cells and fibres in the system. J.Neuropath.exp.Neurol. 12, 400-403, 1953.

König, P.A., Enzyme des Ovars. Fortschritte der Geburtshilfe und Gynäkologie, Vol. 23. Bibliotheca Gynaecologica, Fasc. 34, S. Karger, Basel, 1965. .

Kottmeier, L.H., Classification and staging of malignant tumours in the female pelvis. J.Int.Federat.Gynecol and Obstetr. 3, 204-216, 1965.

Levy, H., Deane, H.W., Rubin, B., Visualisation of steroid 3-ß-ol dehydrogenase activity in tissues intact and hypophysectomized rats. Endocrinology 65, 932-943, 1959.

Mason, N.R., Samuels, L.T., Incorporation of acetat-1-C^{14} into testosterone and 3-ß-hydroxy sterols by the canine testis. Endocrinology 68, 899-904 , 1961.

McKay, D.G., Pinkerton, J.H.M., Hertig, A.T., Danziger,S., The adult human ovary. A histochemical study. Obstet.Gynec. 18, 13-39, 1961.

McKay, D.G., Robinson, D., Observations of the fluorescence, birefringence and histochemistry of the human ovary during the menstrual cycle. Endocrinology 41, 378-394, 1947.

McKay, D.G., Robinson, D., Hertig, A.T., Histochemical observations on granulosa-cell tumors, thecomas and fibromas of the ovary. Am.J.Obstet.Gynec. 58, 625-639, 1949.

Meiling, R.L., Boutielis, J.G., Teteris, N.J., Ullery, J.C., George, O.T., Histochemical observation of a Brenner-tumor with masculinisation. Am.J.Obstet.Gynec. 87, 463-470, 1963.

Menschik, L., Nile blue histochemical method for phospholipids. Stain.Tech. 28, 13-18, 1952.

Menten, M.L., Junge, J., Green, M.H., A coupling histochemical a70 dye test for alkaline phosphatase in the kidney. J.Biol.Chem. 153, 471-477, 1944.

Ling, S., Goldman, H., Hormonal activity of Brennertumors in postmenopausal women. Am.J.Obstet.Gynec. 83, 666-673, 1962.

Morris, J.M., Scully, R.E., Endocrine pathology of the ovary. St. Louis 1958 the C.V. Mosby Company. S. 131, Kap. 9.

Morton, R.K., Transferase activity of hydrolytic enzymes. Nature 172, 65-68, 1953.

Nachlas, M.M., Young, A.C., Seligman, A.M., Problems of enzymatic localization by chemical reaction applied to tissue sections. J.Histochem.Cytochem. 5, 565-583, 1957a.

Nachlas, M.M., Crawford, D.T., Seligman, A.M., The histochemical demonstration of leucine aminopeptidase. J.Histochem.Cytochem. 5, 264-278, 1957b.

Nachlas, M.M., Noris, B., Rosenblatt, D., Seligman, A.M., Improvement in the histochemical localization of leucine aminopeptidase with a new subtrste, 1-leucyl-4-methoxy-2-naphthylamide. J.Biophys.Biochem.Cytol. 7, 261-264, 1960.

Nachlas, M.M., Seligman, A.M., The histochemical demonstration of esterase. J.nat.Cancer.Inst. 9, 415-425, 1949.

Nasu, H., Viale, G.L., Uber die Anwendung von Nicotinsäureamid beim histochemischen Nachweis pyridinnucleotidgebundener Enzyme im Hirngewebe. Histochemie 2, 322-331, 1961.

Niemi, M., Ikonen, M., Cytochemistry of oxydative enzyme systems in the Leydig cells of the rat testis and their functional significance. Endocrinology 70, 167-174, 1962.

Novak, E.R., Goldberg, B., Jones, G.S., O'Toole, R.V., Enzyme histochemistry of the menopausal ovary associated with normal and abnormal endometrium. Am.J.Obstet.Gynec. 93, 669-682, 1965.

Ober, K.G., Die wechselnde Aktivität der alkalischen Phosphatase im Endometrium und Ovar während des menstruellen Cyclus sowie im Myometrium unter der Geburt. Klin.Wschr. 28, 9-11, 1950.

Ober, W.B., Solid ovarian teratoma with struma ovarii; Theca lutein reaction and endometrial hyperplasia. J.Obstet.Gynaec.Brit.Emp. 67, 451-454, 1960.

Ober, W.B., Pollak, A., Gerstman, K.E., Kupperman, H.S., Krukenbergtumor with androgenic and progestional activity. Am.J.Obstet.Gynec. 84, 739-744, 1962.

Padykula, H.A., Herman, E., Factors affecting the activity of ATP-ase and other phosphatases as measured by histochemical techniques. J.Histochem.Cytochem. 3, 161-169, 1955.

Pearse, A.G.E., Histochemistry theoretical and applied. 2.nd.ed. London: J & A Churchill 1960.

Pearson, B., Grose, F., Histochemical demonstration of 17-ß-hydroxy-steroid dehydrogenase by use of tetrazolium salt. Proc.Soc.Exp.biol.Med. 100, 636-638, 1959.

Pfleiderer, A. jr., Histochemische Untersuchungen am Ovarialcarcinom. Vortrag vor der Mittelrheinischen Gesellschaft für Geburtshilfe und Gynäkologie in Mainz am 19.5.1963.

Pfleiderer, A. jr., Enzymhistochemische Untersuchungen am Carcinom des Corpus uteri. Fortschritte der Geburtshilfe und Gynäkologie, Vol. 36. Bibliotheca Gynaecologica, No 49, S. Karger, Basel, 1968.

Pfleiderer, A. jr., Vorkommen und Verteilung von Laktat-Dehydrogenase (LDH) und sog. Leucinaminopeptidase beim Ovarialcarcinom. Vortrag: 5. Akad.Tagg.Deutsch sprech, Prof. u.Priv.Doz. für Geburtshil fe und Gynäkologie Graz, 11.-13. Juni 1968.

Pfleiderer, A. jr., Diezel, P.B., Histochemische Untersuchung der Fette und Lipoide im Gelbkörper. Frankfurt.Z.Path. 70, 207-234, 1959.

Pfleiderer, A. jr., Kiyan, S., Die Behandlung des Ovarial-Karzinoms in der Univ.-Frauenklinik Tübingen seit 1957 und ihre Ergebnisse. Med. Welt. 18 (N.F.): 3095-3102, 1967.

Pioch, W., Über die Darstellung saurer Mucopolysaccharide mit dem Kupferphthalocyaninfarbstoff Astrablau. Virchows Arch.pathol. Anat. 330, 337-346, 1957.

Plotz, E.J., Wiener, M., Stein, A.A., Steroid synthesis in cystadenocarcinoma of the ovaries. Am.J.Obstet. Gynec. 94, 189-194, 1966.

Plotz, E.J., Wiener, M., Stein, A.A., Hahn, B.D., Enzymatic activities related to steroid synthesis in common ovarian cancer. Am.J.Obstet.Gynec. 97, 1050-1058, 1967.

Plotz, E.J., Wiener, M., Stein, A.A., Hahn. B.D., Enzymatic activities related to steroidegenesis in postmenopausal ovaries of patients with and without endometrial carcinoma. Am.J.Obstet.Gynec. 99, 182-197, 1967.

Rutenberg,A.M., Rutenberg,S.H., Monis, B., Teague, R., Seligman, A.M., Histochemical demonstration of ß-D-Galactosidase in the rat. J.Histochem.Cytochem. 6, 122-129, 1958.

Ryan, R.J., The luteinizing hormone content of human pituitaries. (I. Variation with sex and age). J.clin.Endocr. 22, 300-303, 1962.

Ryan, K.J., Petro, Z., Steroid biosynthesis by human ovarian granulosa and thecal cells. J.clin.Endocr. 26, 46-52, 1966.

Scarpelli, D.G., Hess, R., Pearse, A.G.E., The cytochemical localization of oxidative enzymes. I. Diphosphopyridine nucleotide diaphorase. J.Biophys.Biochem.Cytol. 4, 747-751, 1958.

Schnabel, R., Eine topochemische Methode zur Differenzierung des freien und veresterten Cholesterins. Acta.histochem. 18, 161-167, 1964.

Schmidt-Matthiesen, H., Das Kollumkarzinom und sein Bindegewebe. Morphologie, Histochemie und Systematik als Grundlage klinischer Bewertung. Z.Geburtsh.Gynäk. 151, 155-192, 1958.

Scott, J.S., Lumsden, C.E., Levell, J.M., Ovarian endocrine activity in association with hormonally inactive neoplasia. Am.J.Obstet.Gynec. 97, 161-170, 1967.

Scully, R.E., Androgenic lesions of the ovary. S. 143-174. In: The ovary, International Academy of Pathology Monograph. The Williams & Wilkins Company, Baltimore 1963. Editors: Grady, H.E., Smith, D.E.

Scully, R.E., Cohen, R.B., Oxydative enzyme activity in normal and pathologic human ovaries. Obstet.Gynec. 24, 667-681, 1964.

Scully, R.E., Morris, J.M., Functioning ovarian tumors, S. 20-34. In: Progress in gynecology, Vol. III. Edited by Meigs, J.V. and Sturgis, S.H.; Grune & Stratton, New York.

Scully, R.E., Richardson, G.S., Luteinization of the stroma of metastatic cancer involving the ovary and its endocrine significance. Cancer, Philad. 14, 827-840, 1961.

Seligman, A.M., Manheimer, L.H., A new method for the histochemical demonstration of acid phospha tase. J.nat.Cancer.Inst. 9, 427-434, 1949.

Smith, O.W., Ryan, K.J., Biogenesis of estrogens by the human ovary: Formation of neutral steroid intermediates from progesteron-4-C^{14}, androstendione-4-C^{14} and cholesterol-4-C^{14}. Endocrinology 69, 970-983, 1961.

Smith, O.W., Ryan, K.J., Estrogen in the human ovary. AmJ.Obstet.Gynec. 84, 141-153, 1962.

Spandoni, L., Lindberg, M.C., Herrmann, W.L., The endocrin function of ovarian stroma cells in a Krukenbergrumor. Obstet.Gynec. 23, 630, 1964.

Spandoni, L.R., Lindberg, M.C., Mottet, N.K., Herrmann, W.L., Virilization coexisting with Krukenberg-tumor during pregnancy. Am.J.Obstet.Gynec. 92, 981-991, 1965.

Sternberg, W.H., Gaskill, C.J., Theca cell tumors. Am.J.Obstet.Gynec. 59, 575-587, 1950.

Taylor, H.C., Vorschlag zur Einteilung der häufigsten epithelialen Ovarialtumoren. Geburtsh.Gynäk. 22, 1365-1367, 1962.

Turunen, A., Hormonal secretion of Krukenberg tumours. Acta endocr. 20, 50-56, 1955.

Uhlmann, W., Zur Frage der Carcinommetastasen im Ovar, unter besonderer Berücksichtigung der sog. Krukenbergtumoren. Arch.Gynäk. 168, 468-496, 1939.

Ufer, J., Hormon-therapie in der Frauenheilkunde. W. de Gruyter, Berlin, 1966, 3. Aufl., S. 41, Abb. 24 und 25.

Wagner, H., Interstitielle Blutung und Ruptur eines Krukenbergtumors mit Virilismus. Zbl.Gynäk. 72, 300-309, 1950.

Wattenberg, L.W., Microscopic histochemical demonstration of 3-ß-ol-dehydrogenase in tissue sections. J.Histochem.Cytochem. 6, 225-232, 1958.

Weinhouse, S., Brewer, J.L., Cyclic variations in the lipids of the corpus luteum. J.biol.Chem. 143, 617-6, 1942.

Willighagen, R.G.J., Thiery, M., Enzyme histochemistry of ovarian tumors. Am.J.Obstet.Gynec. 100, 393-404, 1968.

Wren, B.G., Frampton, J., Oestrogenic activity associated with non feminising ovarian tumours after the menopause. Brit.Med. J. 2, 842-844, 1963.

Woodruff, J.D., Acosta, A.A., Variations in the Brenner tumor. Am.J.Obstet.Gynec. 83, 657-665, 1962.

Woodruff, J.D., Bie, L.S., Sherman, R.J., Mucinous tumors of the ovary. Obstet.Gynec. 16, 699-712, 1960.

Woodruff, J.D., Goldberg, B., Jones, G.S., Enzymic histochemical reactions in two Krukenberg tumors associated with clinically different endocrine patterns. Am .J.Obstet.Gynec. 100, 405-417, 1968.

Woodruff, J.D., Williams, T.J., Goldberg, B., Hormon activity of the common ovarian neoplasms. Am.J.Obstet.Gynec. 87, 679-698, 1963.

Herrn Dozent Dr. Pfleiderer danke ich
für die Uberlassung des Themas und die
Unterstützung bei der Durchführung
meiner Doktorarbeit.

L e b e n s l a u f

Am 1. Mai 1943 wurde ich, Günter Teufel, als 1. Kind des Regierungsrats Ernst Teufel und seiner Ehefrau Maria, geb. Kramer, in Tuttlingen geboren.

In Tettnang besuchte ich die Volksschule bis 1953 und das Gymnasium bis 1954. Anschließend wechselte ich auf das Kepler-Gymnasium Tübingen über und bestand dort 1962 das Abitur.

Im folgenden Jahr legte ich das Graecum und das Hebraicum am ev. kirchlichen Sprachkurs in Stuttgart ab.

Mein Studium der Medizin begann ich 1963 an der Universität Tübingen und bestand hier 1964 das Vorphysikum und 1965 das Physikum. Nach weiteren 4 Semestern in Tübingen setzte ich mein Studium in Hamburg fort und schloß es dort im August 1969 mit dem Staatsexamen ab.

Druckbüro Frau Elly HUTH, 74 Tübingen